INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
CICIMAR-IPN

HÁBITOS ALIMENTARIOS Y RELACIÓN INTERESPECÍFICA ENTRE LA BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*) Y LA BALLENA DE ALETA (*B. physalus*) EN EL SUROESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS

EN

MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

NANCY CRISTINA JIMÉNEZ PINEDO

LA PAZ, B.C.S., JUNIO DE 2010

SIP-14

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de **La Paz, B.C.S.,** siendo las **12:00** horas del día **18** del mes de **Mayo** del **2010** se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de **CICIMAR** para examinar la tesis titulada:

"HÁBITOS ALIMENTARIOS Y RELACIÓN INTERESPECÍFICA ENTRE LA BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*) Y LA BALLENA DE ALETA (*B. physalus*) EN EL SUROESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA"

Presentada por el alumno:

JIMÉNEZ	**PINEDO**	**NANCY CRISTINA**
Apellido paterno	materno	nombre(s)

Con registro:

A	0	8	0	2	0	3

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron ***APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS***, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Director(a) de Tesis

DRA. DIANE GENDRON LANIEL

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ

MC. JOSÉ RICARDO PALOMARES GARCÍA

DRA. KARINA ACEVEDO WHITEHOUSE

DRA. BÁRBARA GONZÁLEZ ACOSTA

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE

PODER EJECUTIVO FEDERAL ESTADOS UNIDOS MEXICANOS MEXICO, D.F.

IPN
CICIMAR
DIRECCION

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de **La Paz, B.C.S.,** el día **25** del mes **Mayo** del año **2010** , el (la) que suscribe **BIOL. NANCY CRISTINA JIMÉNEZ PINEDO** alumno(a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS** con número de registro **A080203** adscrito al **CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS** manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: **DRA. DIANE GENDRON LANIEL** y cede los derechos del trabajo titulado:

"HÁBITOS ALIMENTARIOS Y RELACIÓN INTERESPECÍFICA ENTRE LA BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*) Y LA BALLENA DE ALETA (*B. physalus*) EN EL SUROESTE EL GOLFO DE CALIFORNIA"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: crispinedo@gmail.com dgendron@ipn.mx
Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BIOL. NANCY CRISTINA JIMÉNEZ PINEDO
nombre y firma

A mi amada familia, mamá, tía y prima, por ser
una compañía permanente y un apoyo inquebrantable

A Contan,
Kidege hukuwaza kidege
Nakupenda Malaika

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional (IPN), por brindarme la oportunidad de obtener una valiosa formación académica. De igual forma quiero agradecer al Instituto de Zoología de Londres y especialmente al Laboratorio de Epidemiología, por recibirme y hacer que este proyecto tomara dimensiones no imaginadas. Agradezco a las organizaciones que apoyaron económicamente el proceso. CONACyT y sus programas para estudios de posgrado y beca mixta para estancias en el extranjero. IPN y su plan de fomento a la investigación (PIFI). Organizaciones extranjeras, Cetaceans Society International (CSI) y Society for Marine Mammalogy (SMM).

A mi directora de tesis la Dra. Diane Gendron, por su incondicional apoyo y formación académica, por impulsarme a tomar riesgos, por permitir la imaginación y sobre todo por haberme dado la oportunidad de vivir una experiencia inolvidable durante estos años de maestría.

Con especial cariño, admiración y respeto quiero agradecer a la Dra. Karina Acevedo Whitehouse no solo por compartir su gran acervo de conocimiento, sino por ser un ejemplo de lucha, sensibilidad y férrea convicción.

Agradezco a mis demás asesores la Dra. Bárbara González Acosta por su paciencia, calidez y constante apoyo, al M. C. Ricardo Palomares por guiarme durante este proceso y al Dr. Jaime Gómez Martínez por aterrizar firmemente el proyecto en el momento justo.

A todos los colectores de heces, Don José del “Don José” y a mis compañeros del Laboratorio de Cetáceos y Quelonios que participaron en salidas de campo y que compartieron alegrías cuando una ballena defecaba en superficie.

A los investigadores externos que contestaron tantas preguntas virtuales y que tuvieron la gentileza de compartir su conocimiento: M. C. Jorge Del Ángel, Dr. Simon Jarman, Dra Larissa Conradt, Dr Chenhong Li, Dr. Hege Vestheim y en especial Dra. Tracey Rogers. Sobre todo agradezco que estos investigadores tuvieran el interés y se dieran el tiempo de guiar desinteresadamente a estudiantes y nuevos investigadores.

A la familia que se escoge, los amigos. Gracias por ofrecerme deliciosas charlas, nuevas ideas y una mezcla de momentos disonantes, armoniosos, calmos y delirantes. Realmente fue un placer compartir estos años con todos ustedes… Juanito, Fabi, Caro, Teo, Bia, Javi, Marian, Pablo, Pri, Oso, Deivid y en especial Quentin. A la familia de otras latitudes y longitudes… Ursul, Laura, Carito, Lucia, Jano, Eddye y sobre todo a Denise.

TABLA DE CONTENIDO

GLOSARIO **3**

RESUMEN **6**

ABSTRACT **7**

1. INTRODUCCIÓN **8**

2. ANTECEDENTES **13**

3. ÁREA DE ESTUDIO **17**

4. JUSTIFICACIÓN **20**

5. OBJETIVOS **21**

5.1. GENERAL 21

5.2. ESPECÍFICOS 21

6. MATERIALES Y MÉTODOS **22**

6.1. DISTRIBUCIÓN Y SEGREGACIÓN ESPACIO-TEMPORAL 22

6.1.1. Distribución espacio-temporal *23*

6.1.2. Segregación espacio-temporal *24*

6.1. ÁNALISIS DE REMANENTES DUROS EN HECES 25

6.2.1. Filtración e identificación *25*

6.2.2. Medición de elementos menores y regresión lineal *25*

6.2. ESCATOLOGÍA MOLECULAR 27

6.3.1. Extracción de ADN *27*

6.3.2. Amplificación por PCR, clonación y secuenciación *27*

7. RESULTADOS **30**

7.1. DISTRIBUCIÓN Y SEGREGACIÓN ESPACIO-TEMPORAL 30

7.1.1. Distribución espacio-temporal *31*

7.1.2. Segregación espacio-temporal *34*

7.2. ANÁLISIS DE REMANENTES DUROS EN HECES 35

7.3. ANÁLISIS DE ESCATOLIGÍA MOLECULAR 38

7.3.1. Extracción de ADN *38*

7.3.2. Amplificación por PCR, clonación y secuenciación *38*

8. DISCUSIÓN 44

8.1. DIETA DE DOS RORCUALES SIMPÁTRICOS 45

8.2. DISTRIBUCIÓN Y SEGREGACIÓN ESPACIO-TEMPORAL 47

8.3. CONCEPTOS DEL ECOSISTEMA BASADO EN LA DIETA DE LOS RORCUALES .. 50

9. CONCLUSIONES 55

10. RECOMENDACIONES 56

11. BIBLIOGRAFÍA 58

ANEXOS 75

GLOSARIO

Ácido desoxirribonucleico: Portador de la información genética en las células, compuesto por dos cadenas complementarias de nucleótidos enrolladas en una doble hélice, capaz de autorreplicarse y de dirigir la síntesis de RNA.

Árbol filogenético: diagrama en forma de árbol que ilustra con sus ramificaciones descendencias y grupos emparentados.

Coexistencia: Existencia simultánea o convivencia de dos o más entidades.

Competencia: interacción entre miembros de la misma población o de dos o más poblaciones que usan el mismo recurso. La competencia por interferencia implica lucha u otras interacciones directas, mientras que la competencia por explotación implica la eliminación o el vaciamiento de un recurso.

Especiación: proceso por el cual se originan nuevas especies.

Estenófago: Organismo que tiene una dieta alimentaria muy restringida.

Eurífago: Organismo cuya dieta está conformada por una amplia variedad de presas.

Gen: todo segmento de DNA que se encuentra luego de un promotor y que puede ser transcrito por una RNA polimerasa y originar un RNA funcional.

Hábitat: lugar en el que pueden encontrarse habitualmente los individuos de una especie determinada.

Heces: Resultado del proceso mediante por el cual se eliminan los desechos metabólicos del cuerpo de un organismo.

Mandíbulas: en los crustáceos, insectos y miriápodos, los apéndices inmediatamente posteriores a las antenas; usados para atrapar, mantener, morder o masticar la comida.

Nicho ecológico: conjunto particular de factores ambientales y bióticos con los que interactúa una población determinada en la comunidad de la cual forma parte.

Nivel trófico: la posición de una especie en la red alimentaria o en la cadena alimentaria, o sea, su nivel de alimentación.

PCR: técnica usada para crear un gran número de copias de un segmento de DNA, que utiliza ciclos de desnaturalización, apareamiento con cebadores y extensión por una DNA polimerasa termorresistente.

Plásmido: en los procariontes, una molécula de DNA circular, pequeña, extracromosómica, de replicación independiente. p. R: plásmido que actúa en la resistencia a ciertos fármacos. p. F: plásmido que interviene en la determinación de la “sexualidad” de las bacterias.

Relación trófica o alimentaria: Intercambio de materia y energía entre las especies al alimentarse

Segregación: La división de los recursos en la población o entre diferentes especies.

Simpatría: Viene de la especiación simpátrica o simpátrida por la cual se forma una nueva especie sin que se establezca previamente una barrera geográfica entre poblaciones, a diferencia de lo que ocurre en la especiación alopátrica, considerada más comúnmente como “normal”.

Simpátricas, especies: Dos o más especies que vienen de una especiación simpátrica y se encuentran en la misma área de distribución geográfica.

Sucesión ecológica: proceso gradual por el cual cambia la composición de especies en una comunidad.

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Localización del Suroeste del Golfo de California (SOGC). En el presente estudio se considera como zona La Paz desde Isla Cerralvo hasta la punta norte de Isla San José y zona Loreto desde la punta norte de Isla San José hasta la Isla del Carmen. 18

Figura 2. Variación temporal del esfuerzo de avistamiento en el SOGC 31

Figura 3. Variación y comparación temporal de la abundancia relativa entre la ballena azul (*Bm*) y de aleta (*Bp*) en la época de primavera-invierno al Suroeste del Golfo de California 32

Figura 4. Distribución de la ballena azul (círculos azules) y la ballena de aleta (triángulos rojos) en invierno-primavera del el SOGC, mostrando el esfuerzo total para cada mes de la temporada. 33

Figura 5. Variación temporal de la abundancia relativa entre la ballena azul y de aleta en **a)** La Paz y **b)** Loreto y grado de segregación espacial por mes entre la ballena azul y la ballena de aleta en la temporada de invierno-primavera en **c)** La Paz y **d)** Loreto. 35

Figura 6. Histogramas de frecuencia de la longitud total de *N. simplex* ingeridos por la ballena azul y la ballena de aleta 36

Figura 7. Comparación de las tallas de *N. simplex* consumidas (mm) entre *B. musculus* y *B. physalus* en la zona La Paz y zona Loreto. 38

Figura 8. Gel de agarosa al 2 % mostrando el producto de PCR con los oligonucleótidos a) EufaLSU, b) Pztele16S, c) Copep28S y d) Cal28S, en los 10 grupos compuestos*:* Bm1 hasta Bm8 = muestras de ballena azul y Bp1 y Bp2 = muestras de ballena de aleta. E1 a E3, Pez, Cop y Cal1 a Cal2 son los controles positivos de las presas evaluadas. 39

Figura 9. Gel mostrando el producto de PCR con el oligonucleótido EufaLSU en las muestras originales. Muestras 1 a 41 pertenecen a ballena azul y muestras 42 a 49 pertenecen a ballena de aleta. E1, E2 y E3 son los controles positivos de eufáusidos. 40

Figura 10. Gel de agarosa al 2 %mostrando el producto de PCR con el oligonucleótido Pztele16S en las muestras originales. Muestras 1 a 41 pertenecen a ballena azul y muestras 42 a 49 pertenecen a ballena de aleta. Pez es el control positivo para peces teleósteos. 41

Figura 11. Árbol filogenético elaborado a partir del algoritmo “neighbour joining”. Se muestra el grado de similitud entre las secuencias objetivo de las presas de ballena azul y de aleta y las secuencias de referencia. Los valores de cada rama del árbol indican tres diferentes OTU con un porcentaje de similitud mayor al 98 %. El nombre de los clones o secuencias objetivo son: **Eu** para eufáusidos y **Pz** para peces teleósteos y las secuencias de referencia se reportan con los números de acceso al taxa del banco de genes de NCBI. 43

Figura 12. Gel de agarosa al 2% mostrando el producto de PCR con el oligonucleótido Pztele16S en las muestras originales. Muestras 1 a 41 pertenecen a ballena azul y muestras 42 a 49 pertenecen a ballena de aleta. Pez es el control positivo para peces teleósteos. 44

Tabla1. Oligonucleótidos usados para PCR. * Oligos familia-específico de *Mictofidae* para PCR anidado oligo externo, $*^1$ oligo interno$*^2$. 28

Tabla 2. Comparación de las tallas de *N. simplex* consumidas (mm) por *B. musculus* y *B. physalus* en la zona La Paz y zona Loreto y ambos rorcuales en cada zona independientemente. 37

RESUMEN

En el Golfo de California, entre noviembre y mayo se encuentran dos grandes misticetos, la ballena de aleta (*Balaenoptera physalus*), que reside en la zona y la ballena azul (*Balaenoptera musculus*), que migra anualmente desde las aguas de California. Así, se superponen ambas especies cuando su principal presa, el eufáusido *Nyctiphanes simplex* se encuentra en abundancia. Además de ser especies simpátricas, sus dimensiones corporales y hábitos alimentarios son semejantes, lo cual en conjunto incrementa la probabilidad de competencia en zonas de superposición geográfica. Esta tesis investiga la relación interespecífica de ambos rorcuales basándose en el análisis de su dieta, distribución y segregación espacio-temporal a partir de datos colectados durante recorridos en el Suroeste del Golfo de California (SOGC) realizados entre 1993 y 2008. La metodología consistió en tres partes: (1) se determinó el coeficiente de segregación a partir de la distribución espacio–temporal de las ballenas, (2) se identificó la dieta de las ballenas con el análisis morfológico de estructuras duras en muestras fecales y (3) se identificó el ADN del material blando en las heces mediante análisis moleculares. La distribución espacial confirmó suposiciones previas sobre una segregación de hábitat e identificó a la ballena azul como especie dominante en la zona. El grado de segregación espacial determinó una alta segregación a lo largo de invierno-primavera y una baja segregación a final de la temporada, cuando la ballena de aleta aumenta en número en SOGC. El análisis de remanentes duros en heces confirmó a *N. simplex* como principal presa para ambos rorcuales. La escatología molecular reveló, además de los eufáusidos, dos nuevos componentes tróficos en la dieta de los rorcuales (copépodos y peces teleósteos de la familia Mictophidae). El componente mictófidos se halló en el 100% de las muestras fecales de la ballena de aleta e inesperadamente en 98% de las muestras de ballena azul, considerada hasta ahora una especie estenófaga. El estudio sugiere que la ballena azul y la ballena de aleta comparten la misma dieta en el SOGC y usan una estrategia de segregación espacio-temporal para evitar una posible competencia por los recursos alimenticios.

ABSTRACT

Between November and May, two large mysticete species are found in the Gulf of California, namely the resident fin whale (*Balaenoptera physalus*) and the blue whale (*Balaenoptera musculus*), which migrates annually from the waters off California. Thus, there is an overlapping occurrence of both species at this time when their main prey, the euphausiid *Nyctiphanes simplex* is in greatest abundance. Besides being sympatric species, body size and trophic habits are similar. Consequently, there is high probability of competition between species in areas of geographic overlap. These theses investigate the interspecific relationship of blue and fin whales in the Southwest Gulf of California (SWGC) based on analyses of their diet, spatio-temporal distribution and segregation. These data were collected on surveys made between 1993 and 2008. There were three methodological components: (1) Determination of the segregation coefficient of the spatial-temporal distribution of the whales, (2) Identification of prey species from fecal samples using morphological analysis, and (3) Detection of DNA from unrecognizable prey present in the feces using molecular analyses. The segregation coefficient confirmed the previous assumptions on habitat segregation and identified the dominance of blue whales in the SGC. Morphological analysis confirmed the euphausiid *N. simplex* as the main prey for both rorqual species. In contrast, molecular analyses revealed, in addition to eufausiids, two new trophic components in the diets of both whales (copepods and teleotei fish of the family Mictophidae). The mictophiid component was detected in 100% of the fin whale fecal samples and, unexpectedly, in 98% of the blue whale fecal samples, considered until now a stenophagous species. This study shows that blue and fin whales in the SGC share the same dietary composition during the winter-spring season, and use a strategy of spatio-temporal segregation to avoid competition for food resources.

1. INTRODUCCIÓN

La distribución de los cetáceos puede ser amplia y diversa (Corkeron, 1991), pero en su mayoría depende de la variabilidad ambiental y biológica que influencia la agregación de sus presas (Acevedo & Burkhart, 1998; Alava, 2002; Moreno *et al.*, 2005). Por lo tanto, el análisis de la dieta, las interacciones tróficas entre los consumidores y los movimientos de las poblaciones, genera una valiosa plataforma para el entendimiento de la organización del ecosistema (Yvon-Durocher *et al.*, 2008) y es base fundamental para las teorías sobre diversidad, estructura y dinámica de múltiples especies (Stein & Georgiadis, 2008; Van Langevelde & Prins, 2008).

Los grandes cetáceos suelen agregarse principalmente en regiones donde las condiciones oceánicas promueven un alto contenido de nutrientes, productividad biológica y agregación de sus presas (Gaskin, 1982). Pero el costo-beneficio de las agregaciones alimenticias, no siempre es eficiente (Stensland *et al*., 2003) y una demanda activa sobre el recurso común puede inducir una relación de competencia interespecífica entre varias especies del mismo nivel trófico. Esto ocurre porque dos especies con requerimientos biológicos y ecológicos similares no pueden compartir el mismo nicho ecológico, ya que cada especie tiene una relación única con todos los aspectos de su entorno (Armstrong, 1976).

Diversos estudios que analizan la superposición de la dieta y la heterogeneidad espacial y temporal de los recursos, apuntan a la comprensión de cómo pueden coexistir las especies que utilizan recursos similares y cuál es el límite de la distribución y superposición de una especie con respecto a otra. Estas interacciones son centrales en la ecología del comportamiento y se ha llegado a la conclusión que la coexistencia sólo es posible cuando hay algún tipo de partición en los recursos o el hábitat (Van Wieren & Van Langevelde, 2008; Owen-Smith, 2008).

El balance nutricional es un proceso multifactorial que depende principalmente de la tasa de ingestión, el contenido nutritivo del material ingerido y la abundancia

o disponibilidad de la presa (Owen-Smith, 1992). Por lo tanto, para evitar que se genere una exclusión del hábitat, las especies tienden a adoptar relaciones interespecíficas de segregación territorial. Lo anterior es observado como la especialización o diversificación del alimento o del nicho ecológico mediante adaptaciones morfológicas, fisiológicas, o de comportamiento que permitan beneficiarse de diferentes partes y/o estadios de sus presas o utilizar recursos espacio-temporalmente diferentes (Began *et al*., 1996; Stein y Georgiadis, 2008).

Durante el periodo invierno-primavera del Golfo de California coexisten dos rorcuales, la ballena azul (*Balaenoptera musculus*) y la ballena de aleta (*Balaenoptera physalus*), que presentan hábitos alimentarios similares. La primera, migra al Golfo de California anualmente desde el Pacífico nororiental, principalmente desde la costa de California. Esta población se desplaza hacia el sur con relación a las condiciones oceanográficas que promueven la abundancia de sus recursos alimentarios y las aguas más cálidas en invierno que favorecen la reproducción y la formación de grupos de crianza (Gendron, 2002; Etnoyer *et al*., 2004; 2006). La migración de la ballena azul no está claramente definida y puede ser muy extensa desde latitudes altas del Golfo de Alaska (Calambokidis *et al*., 2009) hasta latitudes bajas como las islas Galápagos (Palacios, 1999). Sin embargo, durante su migración las zonas de mayor agregación en el Pacífico oriental son las áreas oceánicas de California, la costa occidental de Baja California, el Golfo de California y el Domo de Costa Rica (Etnoyer *et al*., 2004).

La ballena de aleta se distribuye ampliamente alrededor del mundo y al igual que otros balaenopteridos migra desde zonas templadas, donde lleva a cabo sus actividades reproductivas, hacia altas latitudes para alimentarse (Aguilar, 2002). En el Golfo de California se han registrado avistamientos de esta especie durante todos los meses del año, lo cual sugiere una residencia permanente en la zona. Para confirmar este supuesto, se han realizado estudios con ADN mitocondrial y nuclear que demuestran poca variabilidad en el Golfo de California (Bérubé *et al*., 1998) y una diferenciación genética significativa con la población del Pacífico Norte, lo que sugiere que se trata de una población aislada (Bérubé *et al.,* 2002).

La ballena azul se considera una especie estenófaga que se alimenta exclusivamente de densas agregaciones de eufáusidos mientras que la ballena de aleta es más generalista, con un espectro trófico más amplio y aunque sus principales presas son componentes del zooplancton, puede complementar su dieta con organismos de niveles tróficos más altos como peces pelágicos menores (Gaskin, 1982; Fiedler *et al.,* 1998). En el Pacífico Norte, se ha identificado que la dieta de la ballena azul es conformada principalmente por los eufáusidos *Euphausia pacífica* y, con mayor abundancia, *Thysanoessa spinifera.* Estos también forman parte de la dieta de la ballena de aleta, además de copépodos, mictófidos, sardinas y, ocasionalmente, calamares (Nemoto, 1957; 1959).

En el suroeste del Golfo de California (SOGC), a partir del análisis de remanentes duros en heces se evidenció que ambos rorcuales se alimentan preferentemente (96 a 100%) del eufáusido *Nyctiphanes simplex* durante invierno-primavera (Del Ángel-Rodríguez, 1997). Por otra parte, Gendron *et al*. (2001) identificaron señales isotópicas distintas entre ambas ballenas mediante el análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno en piel, lo que dio paso a dos hipótesis. La primera, que la ballena de aleta se alimenta de presas de mayor nivel trófico que la ballena azul en el Golfo de California durante invierno y primavera. La segunda, que las muestras colectadas en dicha época, indican las señales isotópicas de los hábitos alimentarios de la ballena azul en las costas de California y no las señales del Golfo de California. Según el trabajo realizado por Jaume-Schinkel (2004), aunque no se confirmó la primera hipótesis, quedan demostradas diferencias estacionales en las señales isotópicas de la ballena de aleta en el Golfo de California, lo que a su vez indica que existe un cambio estacional en los hábitos tróficos. Durante el verano incrementan el consumo de componentes de mayor nivel trófico como las sardinas, ya que se ve disminuida la abundancia de *N. simplex* (Brinton & Townsend, 1980; Gendron, 1990). La segunda hipótesis fue corroborada por Busquets-Vass (2008), quien identificó que la tasa de recambio en las señales isotópicas de la piel de ballena azul es aproximadamente de tres meses y que las señales van aumentando gradualmente en el tiempo con respecto a su permanencia y alimentación en el Golfo de California, hasta llegar en el mes

de abril, a valores cercanos a los reportados para la ballena de aleta por Gendron *et al.* (2001). Lo cual indica, que en invierno-primavera la diferencia en las señales isotópicas entre las especies refleja zonas de alimentación distintas, más no hábitos tróficos diferentes.

La similitud en la dieta durante invierno y primavera puede generar un mayor traslape en las zonas de alimentación y, por consiguiente, una competencia interespecífica (Bérubé & Aguilar, 1998). Sin embargo, en el Golfo de California aparentemente existe una segregación espacio-temporal entre ambas especies.

Las primeras evidencias de una segregación espacio-temporal, han surgido por los pocos avistamientos de agrupaciones mixtas en el SOGC durante el periodo 1993-2007 (com. pers. D. Gendron, 2010). En la Bahía de La Paz, se encontró que ambos rorcuales utilizan la región en diferente espacio y en tiempo (Del Ángel-Rodríguez, 1997). Durante un crucero oceanográfico realizado a lo largo del Golfo de California, Chávez-Andrade (2006) propuso, mediante técnicas de análisis multivariados, que ambas especies usan hábitats distintos. La ballena azul se distribuye a lo largo del Golfo de California, en aguas cálidas y profundas elevadas concentraciones de eufáusidos, sin presentar fidelidad a una región en particular de éste. En contraste, la ballena de aleta habita aguas relativamente someras, frías y con bajas concentraciones de eufáusidos.

Las técnicas analíticas que se han usado hasta el momento para diferenciar el espectro trófico de ambas ballenas permiten poca resolución, por ejemplo el análisis de remanentes duros en heces puede subestimar la composición de la dieta (Casper *et al*., 2007b), no solo por la alta digestibilidad que tienen los misticetos (Kieckhefer, 1992), sino también porque las estructuras duras podrían rápidamente precipitarse en el océano al momento de la excreción (Parson, *et al.,* 2003). Por otro lado, los análisis de isótopos estables y ácidos grasos son una buena herramienta en la identificación de cadenas tróficas y flujo de energía, pero no indican explícitamente la presa ingerida (Iverson, 1993; Hobson, 1999). Por lo tanto se propuso caracterizar los componentes tróficos por medio de la extracción del ADN total en las heces y su posterior amplificación selectiva. Esta técnica,

denominada “escatología molecular” se inició a comienzos de la década de los 90s (Höss *et al.* 1992) y se ha implementado en la caracterización de la dieta de varios mamíferos marinos (e.g. pinípedos y ballenas), crustáceos (e.g. copépodos y langosta), aves marinas (e.g. pingüinos y aves insectívoras), peces (e.g. tiburón ballena) y en una variedad de insectos terrestres (Jarman *et al*., 2002; 2004; Deagle *et al.,* 2005; Blankenship & Yayanos, 2005; Vestheim *et al*., 2005 y Casper *et al*., 2007a).

En la presente tesis se propone analizar la relación interespecífica de la ballena azul y la ballena de aleta por medio de la identificación detallada de los componentes alimentarios y su relación con la distribución y posibles movimientos en el SOGC. El propósito de este análisis en conjunto es discriminar las diferencias y similitudes de la dieta y distribución de dos especies de rorcuales que coexisten en el Golfo de California.

2. ANTECEDENTES

Los registros sobre la relación interespecífica entre la ballena azul y de aleta han sido reportados en áreas de alimentación como el Atlántico Norte (Doniol-Valcroze *et al*., 2007) y el Pacífico Norte (Nemoto, 1957; Fiedler *et al*., 1998). El Golfo de California además de ser un área de agregación en época de invierno, es una importante zona de alimentación (Gendron, 2002).

El estudio más cercano a este trabajo sobre la relación interespecífica entre la ballena azul y de aleta, es el de Del Ángel-Rodríguez (1997) en la bahía de La Paz, en cual comparó la distribución espacio-temporal de ambas especies durante 1993 a 1995 y observó una separación del hábitat. Por medio del análisis de remanentes duros en heces identificó como principal presa al eufáusido *N. simplex* y en menor proporción *N. difficilis,* y no identificó una relación entre la segregación espacial y temporal con los hábitos alimentarios.

Mejía–Acosta (2003), realizó un análisis intraespecífico para la ballena azul en la parte sur de la Península de Baja California y empleó el análisis de remanentes duros en heces para determinar que la dieta de las ballenas azules está constituida en un 100% de larvas, juveniles y adultos de *N. simplex*. Con un tamaño de muestra mayor al del estudio de Del Ángel-Rodríguez (1997) encontró diferencias significativas entre el tamaño de eufáusidos ingeridos por hembras con cría e individuos solitarios, además de hallar diferencias entre los meses de recolecta.

Recientemente se desarrollaron dos estudios analizando la influencia ambiental sobre la distribución y abundancia de los cetáceos en el Golfo de California para las estaciones de invierno y primavera (Chavez-Andrade, 2006) y a lo largo del año para la bahía de La Paz (Pardo, 2009). Ambos trabajos corroboraron que se presenta una segregación de hábitat entre la ballena azul y de aleta. Chavez-Andrade (2006) identificó una relación directa entre las mayores densidades de biomasa de *N. simplex* con las zonas de distribución de la ballena azul y las zonas de mayor producción de clorofila *a* con la distribución de la

ballena de aleta. Además de observar que en la zona norte del Golfo de California y áreas costeras se distribuyó principalmente la ballena de aleta, mientras que la ballena azul no muestra una afinidad a alguna zona en particular del Golfo. Por su parte Pardo (2009) manifiesta que una sucesión ambiental podría modular la distribución de los cetáceos más abundantes en la zona. Con respecto a la ballena azul y de aleta identificó una segregación espacial entre éstas relacionada con periodos de mezcla, surgencia y estratificación.

Dentro de otros estudios que analizan la relación interespecífica entre animales con una dieta similar o idéntica, se encuentran el de Shane (1995) quien identificó en la isla de Santa Catalina, al sur de California una posible competencia por interferencia entre la ballena piloto de aletas cortas (G*lobicephala macrorhynchus*) y el delfín de Risso (*Grampus griseus*), ya que observó una disminución substancial en la población de la primera especie después del evento niño de 1982-83, cuando el alimento disponible para ambas también decayó. Praca & Garnier (2008) compararon los nichos ecológicos de tres odontocetos teutófagos en el mar Mediterráneo mediante un análisis discriminante, con el fin de evaluar una posible competencia alimentaria, concluyendo al fin, que tanto el uso diferencial de la columna de agua y sobre la horizontal, son mecanismos de segregación que evitan una potencial competencia por el mismo alimento. Ainley *et al.,* (2006) proponen que en el mar de Ross, en la Antártida se generó una cascada trófica para el pingüino adelia (*Pygoscelis adeliae*), la ballena minke (*Balaenoptera bonaerensis*), y las orcas (*Orcinus orca*) debido a la disminución de su presa, el diablillo antártico (*Pleuragramma antarcticum*) por un posible canibalismo ocasionado por el descenso del eufáusido cristal (*Euphausia crystallorophias*) el cual era su principal componente alimentario.

Con el propósito de identificar las especies contenidas en las heces que no son observables a partir de un análisis morfológico, se han desarrollado técnicas moleculares que revelan la composición alimentaria a partir de la extracción de ADN de las presas en muestras fecales.

Jarman *et al.* (2002) desarrollaron un método basado en la extracción de ADN para identificar especies de eufáusidos presentes en algunos contenidos estomacales de vertebrados marinos en el océano Antártico, vómito de pingüino y una muestra fecal de ballena azul. Para esto, usaron métodos estándares de extracción de ADN por fenol cloroformo y purificación con sílica y posteriormente la amplificación de éste por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando oligonucleótidos genéricos y específicos. Sobre la dieta de la ballena azul, señalaron que únicamente se encontró ADN remanente del eufáusido *Nyctiphanes australis*.

Más adelante Jarman *et al.* (2004) desarrollaron una gama de oligonucleótidos para detectar secuencias de ADN que se podrían utilizar como biomarcadores para la identificación de células de una especie o grupo objetivo. Uno de estos oligonucleótidos fue diseñado para amplificar cualquier ADN eucariota y otro para amplificar ADN de animales con simetría bilateral. El propósito de estas amplificaciones fue caracterizar el ADN presente en las heces de algunos depredadores, incluyendo una muestra para ballena de aleta del océano austral. El resultado para la ballena de aleta fue ADN perteneciente a diferentes organismos (protistas, diatomeas, algas verdes, hongos, protozoos, platelmintos, eufáusidos y ballena). Por lo tanto identificaron que la única presa inequívoca de la ballena de aleta fueron eufáusidos.

Deagle *et al.* (2005), estandarizaron el método de escatología molecular y la propusieron como herramienta para los estudios de la dieta en leones marinos (*Eumetopias jubatus*) en cautiverio. Los autores subrayaron la necesidad de extraer ADN de alta pureza, ya que al haber pasado por una digestión, el nivel de degradación es alto. También recomendaron el uso de oligonucleótidos específicos a grupos taxonómicos de las presas y realizaron una estimación cuantitativa de las presas en la dieta mediante la clonación de los productos de PCR.

Posteriormente, Deagle & Tollit (2007), obtuvieron mediante la metodología estandarizada por Deagle *et al.* (2005) la composición de la dieta de leones

marinos en cautiverio en el centro científico del Acuario Marino de Vancouver, he implementaron el método cuantitativo de PCR en tiempo real qRT-PCR, para estimar la proporción de cada componente en la dieta, comparándolo con datos empíricos sobre la ingestión alimentaria de cada animal.

Finalmente cabe concluir que los análisis fecales han ampliado la capacidad de estudiar especies emblemáticas, en peligro o vulnerables, como los cetáceos, ya que arrojan una gran gama de información sin necesidad de usar métodos invasivos. Con este material, además de la dieta se puede comprender la propia genética poblacional del depredador (Gillett *et al*., 2008); la biología reproductiva (Rolland *et al*., 2005) la exposición a toxinas y enfermedades parasitarias o infecciosas (Hughes-Hanks *et al*. 2005, Doucette *et al.* 2006 y Rocha-Gosselin, 2009).

3. ÁREA DE ESTUDIO

El presente trabajo se desarrolló en la porción Suroeste del Golfo de California (Figura 1), que es una cuenca oceánica marginal y semi-cerrada, situada al noreste de México y que alcanza una superficie total de 210.000 km^2 (Álvarez-Borrego, 1983; Roden, 1964).

El mar de Cortez o Golfo de California es considerado como un área subtropical, altamente dinámico y con altos índices de productividad primaria como surgencias costeras e intensa mezcla por corrientes de marea (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). Las variables ambientales, físico-químicas y biológicas, denotan la influencia de las corrientes provenientes del Océano Pacífico, también a una elevada tasa de intercambio de calor entre la atmosfera y el océano, además de algunos procesos de mesoescala como las corrientes geostróficas, de marea, remolinos (ciclónicos y anticiclónicos) y surgencias costeras (Lavín & Marinone, 2003).

En la época de invierno, la columna de agua se encuentra en constante mezcla y la capa mínima de oxígeno es profunda (<100m, Tremblay, 2008). Los eventos de surgencia son intensos y los giros ciclónicos y anticiclónicos tienen un efecto significativo en la tasa de crecimiento del fitoplancton (Santamaría-Del Ángel *et al*., 1994; Lluch-Cota 2000).

De acuerdo a la estructura vertical termohalina, Santamaría-del Ángel *et al*. (1994) dividen el Golfo en cuatro regiones distintas: 1) el Golfo del norte entre el Canal de Salsipuedes por la desembocadura del Río Colorado y el Canal de la Isla Tiburón que presenta fuertes corrientes originadas por los vientos; 2) el Canal de Ballenas; donde imperan condiciones oceanográficas inusuales y temperaturas bajas 3) el Golfo inferior, entre la Isla Tiburón y la línea de Cabo San Lucas con Mazatlán y 4) la entrada al Golfo, definida como el área triangular entre Cabo San Lucas, Mazatlán y Cabo Corrientes.

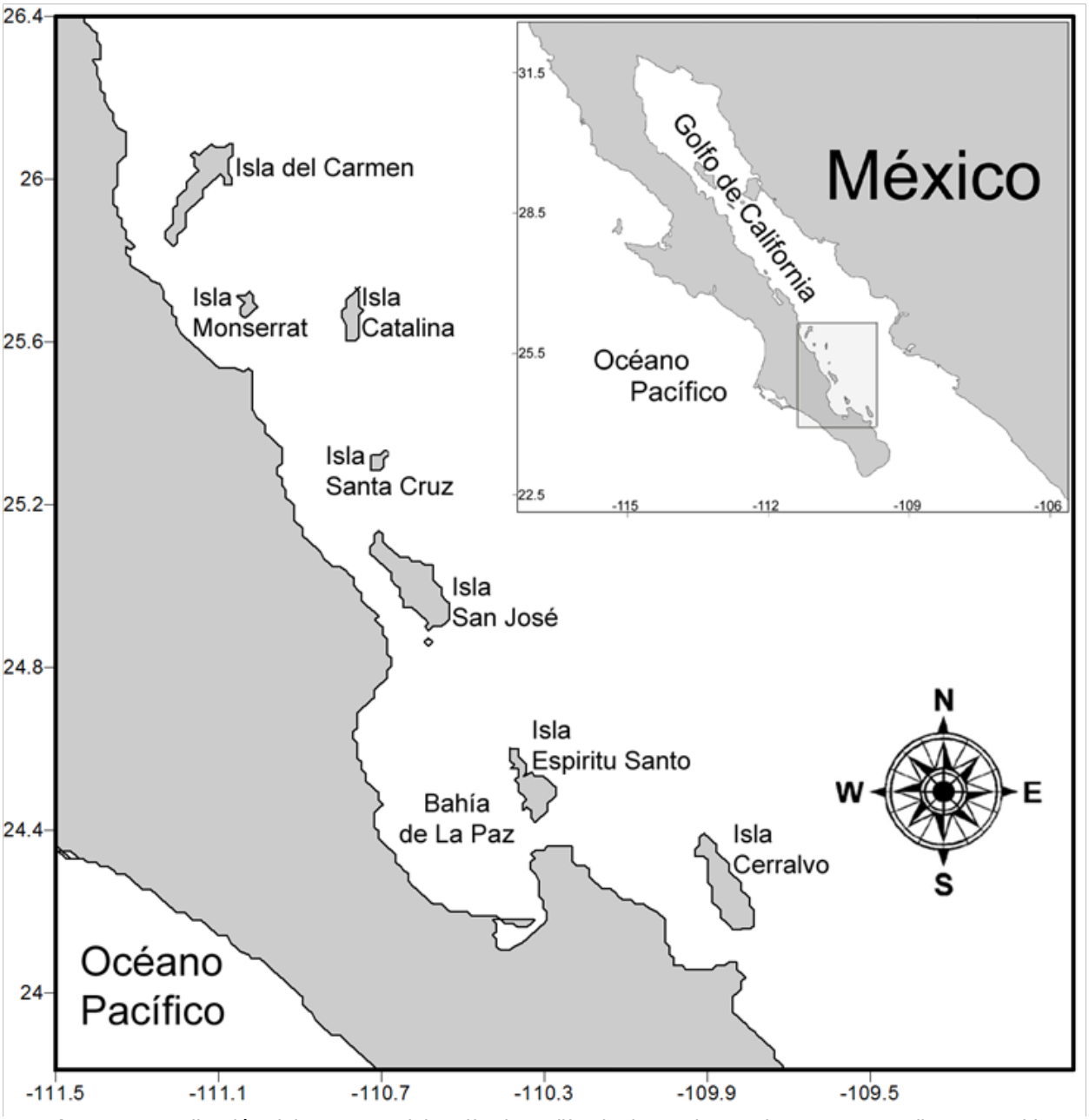


Figura 1. Localización del Suroeste del Golfo de California (SOGC). En el presente estudio se considera como zona La Paz desde Isla Cerralvo hasta la punta norte de Isla San José y zona Loreto desde la punta norte de Isla San José hasta la Isla del Carmen.

El área de estudio o Suroeste del Golfo de California (SOGC) se encuentra en la región tres del Golfo de California, la cual es una porción paralela a la línea de costa, se extiende desde los 24°25'N – 110°20'W hasta los 26°25'N - 111° 30'W.

Al norte comprende la zona de Loreto (25°25'N a 26°25'N - 111° 30'W) y al sur la zona de La Paz (24°25 a 25°25'N - 110°20'W).

El SOGC es un área cálida y seca con lluvias escasas durante el año y dos estaciones definidas por el patrón de vientos dominantes del noroeste. En invierno y principios de primavera los vientos se intensifican y causan un enfriamiento de las aguas con valores de temperatura superficial del mar (TSM), entre 20 y 23° C, mientras que para verano se registra una TSM entre los 26 y 31° C debido a la predominancia de vientos más débiles del Sureste (Gendron 1990; Bernal *et al*., 2001). Dependiendo de la intensidad y duración del viento, se crean corrientes estacionales paralelas a la costa con dirección sureste, a una velocidad aproximada de 15 $cm \bullet s^{-1}$ (López-Espinosa, 1996; Campos, 1998). Durante el invierno la radiación solar es mínima con un ascenso constante hasta llegar al máximo en verano (Obeso-Nieblas *et al.,* 2001).

4. JUSTIFICACIÓN

La competencia interespecífica tienen un papel determinante en la evolución de las especies e influye en la estructura y diversidad de los sistemas ecológicos (Van Wieren & Van Langevelde, 2008), por lo que varios estudios se han enfocado en comprender como coexisten especies que utilizan recursos similares. El Golfo de California sostiene una rica comunidad de cetáceos incluyendo la ballena azul y la ballena de aleta, consideras evolutivamente “especies hermanas”, debido a que vienen de una especiación simpátrica (Hoelzel, 1998) y por ello comparten áreas de distribución y una dieta similar (Nemoto, 1957). El presente trabajo se plantea determinar si la especialización trófica o la segregación de hábitat son factores que permiten su coexistencia en el Suroeste del Golfo de California.

Conocer la dieta de ambos rorcuales es importante porque interviene en las relaciones interespecíficas condicionando su distribución espacial y temporal (Van Wieren & Van Langevelde, 2008). Además, considerando que la ballena azul y la ballena de aleta están dentro de la lista roja de la IUCN con el status de especie en peligro (IUCN, 2010) es de crucial importancia conocer sus requerimientos alimentarios, ya que los constantes cambios en el ecosistema pueden afectar sus hábitos tróficos, supervivencia y éxito reproductivo. Pero los hábitos alimentarios en cetáceos y las conexiones tróficas son difícilmente observables (Casper *et al*., 2007a) y es muy poco lo que se sabe sobre la dieta de estos grandes rorcuales.

Los estudios de ecología alimentaria se han basado en técnicas como el análisis morfológico de remanentes duros en heces que fácilmente subestima los componentes ingeridos (Kieckhefer, 1992), o como los análisis de ácidos grasos e isótopos estables que proporcionan información sobre los patrones de la dieta, pero difícilmente logran identificarla (Iverson, 1993; Hobson, 1999). Por lo tanto incluir la técnica de escatología molecular para determinar la composición trófica de ambos rorcuales resultaría ventajoso, debido a que identifica con alta precisión la dieta de los depredadores (Deagle *et al*., 2005; Casper *et al*., 2007a).

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

Determinar la relación interespecífica entre la ballena azul y la ballena de aleta en la región suroeste del golfo de california durante invierno y primavera, analizando el espectro trófico en la zona a una escala espacio-temporal

5.2. ESPECÍFICOS

1. Comparar la distribución espacio-temporal y la abundancia relativa de la ballena azul y de aleta en el Suroeste del Golfo de California durante la estación primavera - invierno desde 1993 hasta 2008.

2. Determinar y comparar las tallas promedio de los eufáusidos ingeridos por ambos rorcuales a partir del análisis de remanentes duros en heces.

3. Determinar si dentro de la composición alimentaria de los rorcuales, existen componentes diferentes a eufáusidos en el suroeste del Golfo de California, aplicando la herramienta de escatología molecular.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología consta de tres partes: (1) distribución espacial y temporal de ambas especies, (2) análisis morfológico de remanentes duros en heces de cada especie y (3) escatología molecular sobre material blando en heces.

A lo largo del suroeste del Golfo de California (26° 25'N - 110° 45'W - 24° 25'N – 110° 28'W) y en el periodo invierno-primavera de 1993 hasta 2008 se realizaron recorridos no sistemáticos donde se llevaron a cabo registros de la distribución espacial, el número de individuos en cada avistamiento, la composición grupal y las coordenadas geográficas de cada avistamiento. Esta información permite calcular el esfuerzo de observación en kilómetros e inferir el desplazamiento de los rorcuales en la zona.

Las muestras fecales se recolectaron con una red de luz de malla de 1 mm o directamente del mar con un balde de boca ancha. Aproximadamente 1000 gr de heces, fueron almacenadas en recipientes de medio o un litro y se preservaron con formalina o alcohol a diferentes concentraciones a través de los años. Entre 1993 y 1996, las muestras fueron preservadas en formalina al 10 %; entre 1997 y 2006 en etanol al 70 %, y a partir del 2008 se almacenó una alícuota en formalina al 10 % y otra en etanol al 95 %. Normalmente se mantuvo una proporción de tres partes de fijador sobre una parte de muestra.

6.1. DISTRIBUCIÓN Y SEGREGACIÓN ESPACIO-TEMPORAL

Se identificaron los patrones de distribución espacial y temporal de ambos rorcuales y se analizó si tuvieron una distribución geográfica diferente, determinando la abundancia relativa de cada rorcual y aplicando el coeficiente mensual de segregación espacial.

6.1.1. Distribución espacio-temporal

Para determinar la abundancia relativa o densidad de los rorcuales, se dividió el área de estudio en dos secciones: zona Loreto al norte del SOGC (26° 25'N y 25° 25'N) y zona La Paz, en la porción sur del área de estudio (25° 25'N y 24° 25'N). El índice de abundancia relativa (*I*) se desarrolló a partir de una unidad funcional, en este caso el número de animales total por mes, sobre una unidad de superficie lineal o unidad de esfuerzo (Km):

$$I = \frac{\textbf{número de animales}}{\textbf{km}}$$

La unidad de esfuerzo en kilómetros se determinó a partir de la toma periódica de posiciones geográficas en cada recorrido. De este modo la longitud lineal entre un punto y otro derivó de la formula de distancia euclidiana la cual determina la distancia entre dos puntos:

$$d = \sqrt{\left(x_2 - x_1\right)^2 + \left(y_2 - y_1\right)^2}$$

Donde,

$\mathbf{X_1}$ y $\mathbf{X_2}$ son las coordenadas latitudinales; $\mathbf{Y_1}$ y $\mathbf{Y_2}$ son las coordenadas longitudinales.

Para determinar si la abundancia relativa de ambos rorcuales fue significativamente diferente tanto espacial como temporalmente, se compararon los índices de abundancias relativas (*I*) por mes con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para datos pareados independientes. Finalmente, para observar la distribución espacial de ambas ballenas se ubicaron los avistamientos de los últimos 15 años de la ballena azul y de la ballenas de aleta en el área de estudio con ayuda del programa *Surfer 8* ®.

6.1.2. Segregación espacio-temporal

Para estimar mensualmente la segregación entre la ballena azul y de aleta en el Suroeste del Golfo de California se usó el coeficiente de segregación espacial (SC siglas en ingles) descrito por Conradt (1998) y modificado por Conradt *et al.* (1999). Este índice describe el ordenamiento espacial estimando cuantitativamente la combinación de las especies y es estocásticamente independiente de la densidad poblacional y del tamaño grupal. El intervalo de segregación oscila desde “0” (no segregación) donde, en teoría, se observa una composición azarosa hasta “1” (completa segregación) donde los grupos de cada especie se encuentran totalmente separados.

El área de estudio se dividió en cuatro secciones de 0.5 grados de longitud cada una para calcular el coeficiente de segregación. Debido a que el coeficiente es independiente de la escala de observación espacio-temporal y no interfiere en el cálculo que las muestras del mismo individuo se repitan en tiempos diferentes (Conradt *et al*., 1999; Brown, 2000), se agruparon las observaciones mensualmente desde 1993 hasta 2008 y el análisis se basó sobre un año hipotético que resume los datos de la serie de 15 años en el estudio. El coeficiente de segregación espacial fue calculado de la siguiente forma:

$$SC = \sqrt{\left(1 - \frac{N - 1}{XY} \sum_{i=0}^{k} \frac{x_i y_i}{n_i - 1}\right)}$$

Donde,

X es el número total de animales de la especie 1; **Y** es el número total de animales de la especie 2; **N** es el número total de animales (X + Y); $\boldsymbol{x_i}$ es el número de animales de la especie 1 en la sección espacial *i*; $\boldsymbol{y_i}$ es el número de animales de la especie 2 en la sección espacial *i;* $\boldsymbol{n_i}$ es el número total de animales en la sección espacial *i* ($x_i + y_i$) y ***k*** es el número de secciones espaciales.

6.1. ÁNALISIS DE REMANENTES DUROS EN HECES

El análisis de remanentes duros en heces se realizó para caracterizar e identificar diferencias en el espectro trófico a nivel de ítems ingeridos o de partes y estadios de las presas de ambas especies. El proceso se basó en la metodología propuesta por Del Ángel-Rodríguez (1997) y Mejía-Acosta (2003). El análisis se realizó con 40 muestras fecales, fijadas en formalina y etanol al 70 % y recolectadas desde 1993 a 2008 entre la zona de Loreto (*B. musculus* n= 9 y *B. physalus* n= 5) y la bahía de La Paz (*B. musculus* n= 12 y *B. physalus* n= 14).

6.2.1. Filtración e identificación

Se homogenizaron aproximadamente 200 gr de heces y se vaciaron sobre una columna de tres tamices para sedimentología con diferente luz de malla (2 mm, 1 mm, 106 µm). En vez de mantener el proceso clásico de agitación de tamices que se usa en sedimentología, cada muestra se filtró con ayuda de agua, para separar las heces sin romper las estructuras. Los remanentes se almacenaron en etanol al 70 % y se catalogaron como **elementos mayores** a los residuos de los dos primeros tamices (2 mm, 1 mm) y **elementos menores** a las estructuras más pequeñas que fueron re-suspendidas en el tercer tamiz (106 µm).

Los elementos mayores y menores fueron identificados visualmente con un estereoscopio óptico hasta el nivel taxonómico más bajo. Comúnmente los remanentes más abundantes y de mejor calidad para la identificación son las mandíbulas de eufáusidos, ya que son estructuras quitinosas y de difícil digestión. A partir de las mandíbulas se puede identificar el eufáusido hasta el nivel de especie y se puede distinguir el tamaño del individuo ingerido. Las características para las especies presentes en el Golfo de California fueron descritas por Mauchline (1967) (Anexo 1).

6.2.2. Medición de elementos menores y regresión lineal

Para estimar la longitud total del eufáusido ingerido por las ballenas, y comparar las tallas de las presas de cada rorcual, se extrajeron y midieron

aleatoriamente cerca de 200 mandíbulas por alícuota, número mínimo para detectar una diferencia del 10 % entre muestras de heces (Del Ángel-Rodríguez, 1997; Mejia-Acosta, 2003). Para inferir la longitud total del eufáusido a partir del tamaño de las mandíbulas analizadas se utilizó la regresión lineal r^2= 0.84 (m+0.0773; b=0.2099), propuesta por Del Ángel-Rodríguez (1997), la cual establece una relación isométrica entre la longitud mandibular que va desde la punta del incisivo más externo hasta la punta de la inserción mandibular y la longitud total del eufáusido, que se extiende desde la parte posterior del ojo hasta la punta del telson.

Las muestras de heces colectadas entre 1993 a 1996 (37.5 % del total) se fijaron en formalina al 10 %. Debido a que el formol disuelve el carbonato de calcio de los otolitos, escamas y otras estructuras que sirven para la identificación de presas ícticas, se cambió el agente preservador y se almacenaron en etanol al 70 %. Sin embargo, el alcohol también tiene la desventaja de deshidratar y debilitar las estructuras quitinosas como las mandíbulas de eufáusidos, por lo que resultan fáciles de romper.

Debido a los problemas inherentes de ambos fijadores, a partir del 2008 se decidió almacenar las muestras en alícuotas con formol al 10 % así se preservan en óptimas condiciones las estructuras quitinosas de los eufáusidos para la metodología de remanentes duros. Esto considerando que según Kieckhefer (1992) la subestimación del método de remanentes duros para estimar la presencia de peces en misticetos es muy alta, ya que la digestión de las ballenas usualmente disuelve las estructuras carbonatadas. Así que para identificar otras presas diferentes a eufáusidos, se almacenó una alícuota de la muestra fecal en alcohol al 95 %, para preservar el ADN remanente y hacer una posible identificación de las presas por medio de la escatología molecular (Jarman *et al.,* 2002).

Para comparar las tallas de presas consumidas entre las tres variables independientes (tiempo, espacio y especie), se buscó si las muestras cumplen el supuesto de normalidad de datos con la prueba de Shapiro-Wilks (Anexo 2 y 3).

Sin embargo, el 72.5 % de las muestras no presentó normalidad, por lo que se hicieron varias comparaciones no paramétricas para muestras pareadas independientes (Prueba de U, Mann-Whitney) y para muestras múltiples independientes (Kruskall-Wallis).

6.2. ESCATOLOGÍA MOLECULAR

6.3.1. Extracción de ADN

Se extrajeron ácidos desoxirribonucleicos (ADN) de 49 muestras fecales colectadas desde 1997 a 2009 (41 *B. musculus* y 8 *B. physalus*) utilizando el producto comercial QIAamp DNA Stool Mini Kits (QIAGEN, Reino Unido). 36 de ellas fueron almacenadas en etanol al 95 %, como es recomendado para este análisis por Frantzen *et al*. (1998), Taberlet *et al*. (1999) y Deagle *et al*. (2005) y las 13 restantes fueron preservadas en etanol al 70 %.

Primero se eliminó el sobrenadante de etanol y el resto de la muestra se homogenizó para colectar 1.5 ml, los cuales fueron centrifugados en una micro-centrífuga durante 30 segundos a 4000 rpm. Este proceso eliminó los residuos de etanol de la muestra. El sedimento centrifugado, de aproximadamente 180 mg, fue re suspendido agitándolo mecánicamente con 1.4 ml de solución de lisis. A partir de este momento se siguieron las instrucciones propuestas por el fabricante (www.qiagen.com/literature/render).

Para contar con controles positivos y confirmar la especificidad de los oligonucleótidos en las reacciones de amplificación enzimática posteriores, se extrajo ADN de 15 a 20 mg de tejido de varios taxa (eufáusidos, clupeidos, mictófidos, copépodos y calamares) usando el producto comercial QIAmp DNA Easy (QIAGEN, Reino Unido).

6.3.2. Amplificación por PCR, clonación y secuenciación

Basado en análisis de contenido estomacal para la ballena de aleta del Pacifico norte (Flinn *et al.,* 2002) se identificaron cuatro presas potenciales

incluyendo eufáusidos, peces teleósteos, copépodos y calamares. A partir de éstos, se buscaron bibliográficamente pares de oligonucleótidos (Tabla 1m), que amplificaran un producto menor a 300 pares de bases (pb). Los pares de primers Pztele16SF y R fueron diseñados dentro de la región 16S del ADN mitocondrial de clupéidos y otros peces teleósteos (Li & Ortí, 2007). Copep28SF y R fueron diseñados dentro del gen 28S del ARNr a partir de la alineación de 16 especies de copépodos (Bissett *et al*., 2005). Cal28SF y R fueron diseñados a partir del alineamiento de una región específica para calamares en el gen 28S del ADN nuclear (Casper *et al*., 2007a). EufaLSUF y R fueron diseñados para estudios filogenéticos que identificaron una región conservada para la familia Euphausidae en la subunidad larga LSU (por sus siglas en ingles) del ADN nuclear (Jarman *et al*., 2002).

Tabla1. Oligonucleótidos usados para PCR. * Oligos familia-específico de *Mictofidae* para PCR anidado oligo externo, *[1] oligo interno*[2].

Nombre del oligonucleótido	Secuencia *5′ - 3′*	Tanaño aproximado del producto (bp)	Referencia	Presa
Pztele16SF	YTCGCCTGTTTACCAAAAAC	100	Li & Ortí, 2007	Peces teleósteos
Pztele16SR	CCTTYGCACGGTYARAATAC			
Copep28SF	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG	300	Bissett *et al.,* 2005	Copépodos
Copep28SR	GGTCCGTGTTTCAAGACGG			
Cal28SF	CCTTCGGGACGWGTGGCGCA	100	Casper *et al.,* 2007	Calamares
Cal28SR	CCGTCGCTCGCCGTCCGCACC			
EufaLSUF	TCTCAGCGCTGGCAAGGTGTCA	200 - 300	Jarman *et al.,* 2002	Eufáusidos
EufaLSUR	CTCGGGGACGTTTTATCCGGGACGAG			
Micto12SF	CCGTTCAACCTCACCACTTC		Casper *et al.,* 2007	Mictófidos
Micto12SR1*[1]	GGGTCAGAAAATGTAGCCCATC	170		
Micto12SR2*[2]	GCRCACCTCGACCTGA	90		

Para reducir costos y tiempo durante el análisis molecular, se agruparon las 49 muestras en 10 grupos compuestos, 8 de ballena azul que contenían entre 5 y 6 muestras cada grupo, y 2 de ballena de aleta con 5 y 3 muestras, respectivamente. Únicamente cuando el grupo compuesto analizado daba un resultado positivo (amplificación del fragmento esperado) se evaluaba cada una de las muestras que conformaban el grupo compuesto.

Para la amplificación por PCR, cada 10 μl de reacción contuvo ADN (< 1ng), 1 X AmpliTaq PCR Gold® buffer, 200 μM de dNTPs, 0.3 μM de cada oligonucleótido y 25 u/c de AmpliTaq Gold®. Los ciclos térmicos para cada reacción consistieron de 94°C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 94 °C por 30 s, temperatura de alineación (Ta) °C por 45 s, 72 °C por 45 s y una extensión final de 72°C, 10 min. La Ta equivalió a 50 °C, 52 °C, 60 °C y 52 °C para peces teleósteos, copépodos, eufáusidos y calamares, respectivamente. Los productos de PCR fueron separados en geles de agarosa al 2 %, teñidos con SYBR®Gold (Invitrogen, Reino Unido) para confirmar la presencia de las presas, el tamaño correcto de los fragmentos de ADN y para asegurar la ausencia de contaminación con controles negativos (agua libre de nucleasas, utilizada como templete en cada reacción). Las muestras se almacenaron a 4° C

Se eligieron al azar dos productos del PCR de peces en cada especie y dos productos de eufáusidos también en las dos especies para realizar una clonación por vectores, y así, tratar de identificar con mayor aproximación las taxa ingeridas por los rorcuales. Los productos de PCR fueron ligados con el vector pGEM®-T easy vector system (Promega, Reino Unido) y transformados dentro de células competentes de *E. coli* DHTα® (Invitrogen, Reino Unido), por medio de un choque térmico a 42 °C por 30 s y por 120 s. Las células fueron sembradas en placas de medio LB/XGal + ampicilina, éstas se incubaron a 37° C durante 12 horas y las clonas recombinantes se identificaron por medio de la selección colorimétrica de colonias blancas (con plásmido) o azules (sin plásmido) y el inserto positivo se verificó mediante un PCR estándar para clonación.

Las colonias blancas fueron sembradas en medio LB liquido e incubadas toda la noche a 37° C y posteriormente los plásmidos se extrajeron mediante el Kit para micropreparados Zyppy Plasmid® (Cambridge Bioscience, Reino Unido). Los plásmidos purificados se secuenciaron con el Kit para ciclos de secuenciación BigDye® Terminator v3.1 (Applied Biosystems, Reino Unido) en el sistema automatizado de secuenciación capilar ABI 3100.

Cada reacción secuenciada fue analizada por medio del software BioEdit versión 7.0.5 (Hall 1999) y, al confirmarse las lecturas, se procedió a utilizar el algoritmo *Blast* (Altschul *et al.,* 1997) para buscar similitudes genéticas. Se alinearon las secuencias con secuencias de referencia encontradas en el Centro Internacional para la Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en ingles). La similitud entre las secuencias se calculó obteniendo la máxima probabilidad de la distancia entre ellas por medio del algoritmo "Neighbour Joining" o vecino más cercano (NJ, por sus siglas en ingles) en el programa MEGA 4.1 (Kumar *et al*., 2008). Los resultados fueron expresados en árboles filogenéticos con ayuda del programa CLUSTAL_W (www.ebi.ac.uk).

Las secuencias se consideraron parte de la misma unidad taxonómica operacional (OTU, por sus siglas en ingles) si tuvieron más del 98% de similitud. Este valor permite cierta variación intraespecífica, así como errores menores durante la amplificación y la secuenciación, según lo propuesto por Jarman *et al*. (2004).

Como último paso, y para confirmar en las 49 muestras de heces el resultado de la clonación en peces, se realizó un PCR anidado con oligonucleótidos familia-específico para Mictophidae de la región 12S del rADN nuclear (Tabla 1). Cada reacción de PCR contenía los componentes antes descritos y el ciclo térmico consistió de 95 °C por 5 min, seguidos de 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 54 °C para el oligo externo y 50 °C para el oligo interno, por 45 s, 72 °C por 45 s y extensión final de 72 °C por 10 min.

7. RESULTADOS

7.1. DISTRIBUCIÓN Y SEGREGACIÓN ESPACIO-TEMPORAL

En la estación primavera-invierno durante 1993 a 2008 en el periodo, se realizó un esfuerzo total de observación de 82573.57Km dividido entre la zona de Loreto con 14198.9 Km y la zona de La Paz con 68374.63 mn (Figura 2).

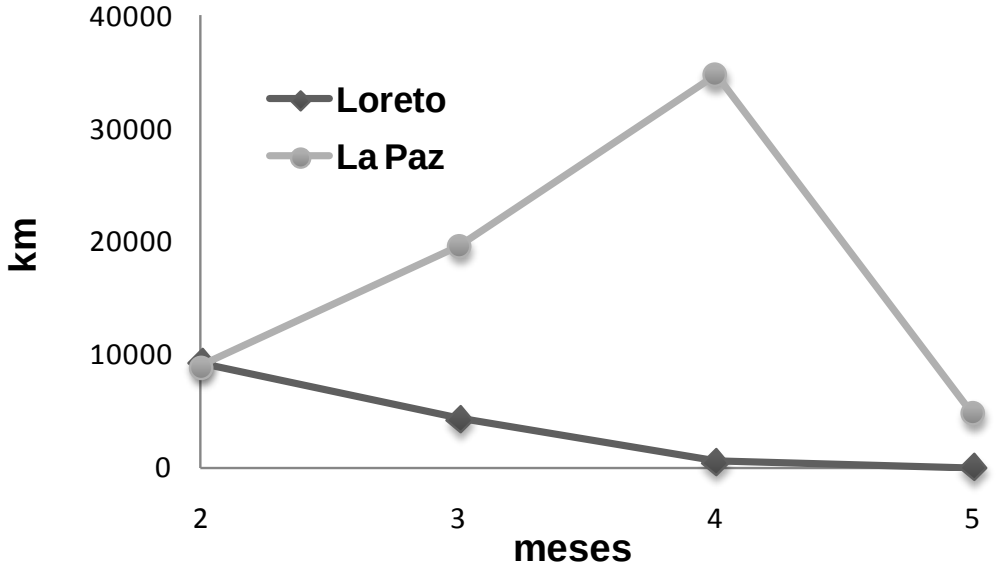


Figura 2. Variación temporal del esfuerzo de avistamiento en el SOGC

7.1.1. Distribución espacio-temporal

En el SOGC y a lo largo de toda la temporada los datos de abundancia relativa mostraron diferencias estadísticas significativas entre las ballenas (U= 3898; p<0.001) e indicaron que existe una dominancia de la ballena azul (0.045 animales•km^{-1}) sobre la ballena de aleta (0.015 animales•km^{-1}). Cabe notar, que dicha relación fue constante desde febrero a abril, mientras que al final de la temporada la relación se tornó inversa (figura 3). A partir de abril se observa un decremento en el número de ballenas azules (0.18 animales•km^{-1}) hasta un mínimo para mayo contrastando el incremento drástico en el número de ballenas de aleta (0.035 animales•km^{-1}) observado para el mismo mes de mayo.

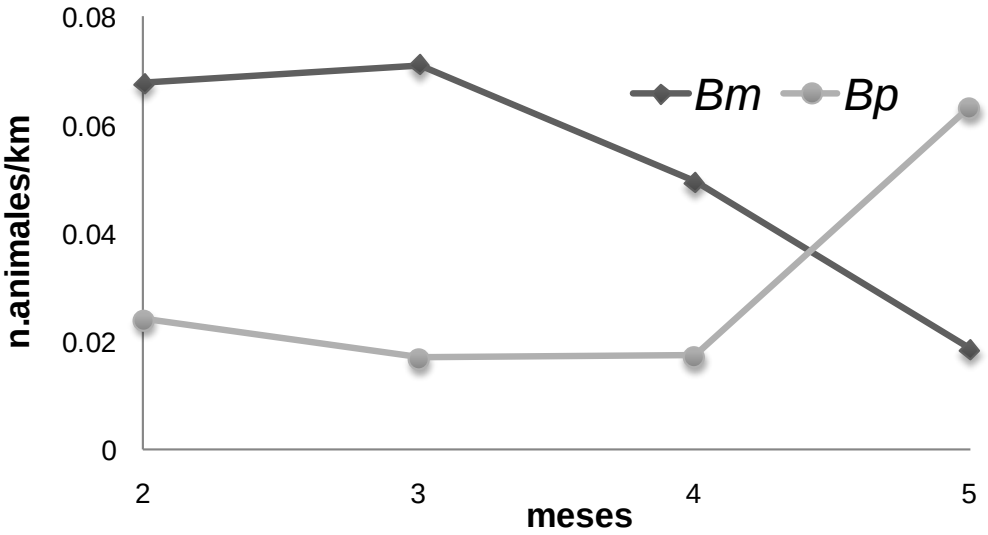


Figura 3. Variación y comparación temporal de la abundancia relativa entre la ballena azul (*Bm*) y de aleta (*Bp*) en la época de primavera-invierno al Suroeste del Golfo de California

Al examinar por separado las zonas de muestreo también se observó una tendencia de mayor frecuencia de aparición de la ballena azul con respecto a la ballena de aleta, especialmente en la zona de Loreto, donde la abundancia relativa fue más del doble que el detectado en la zona de La Paz (Figura 5 a y b). Esto indica que Loreto es un área de distribución relevante para la ballena azul en el SOGC y que a pesar de que en el mes de mayo el esfuerzo de observación se redujo casi a cero (Figura 2), no se puede asegurar que la ballena de aleta incremente su presencia en el área con la misma tendencia detectada en la zona de la Paz (Figura 5b).

En la figura 4 se puede observar gráficamente que al inicio de la temporada la ballena azul domina en número sobre la ballena de aleta y entre abril y mayo se empieza a observar un incremento en las apariciones de la ballena de aleta en la bahía de La Paz.

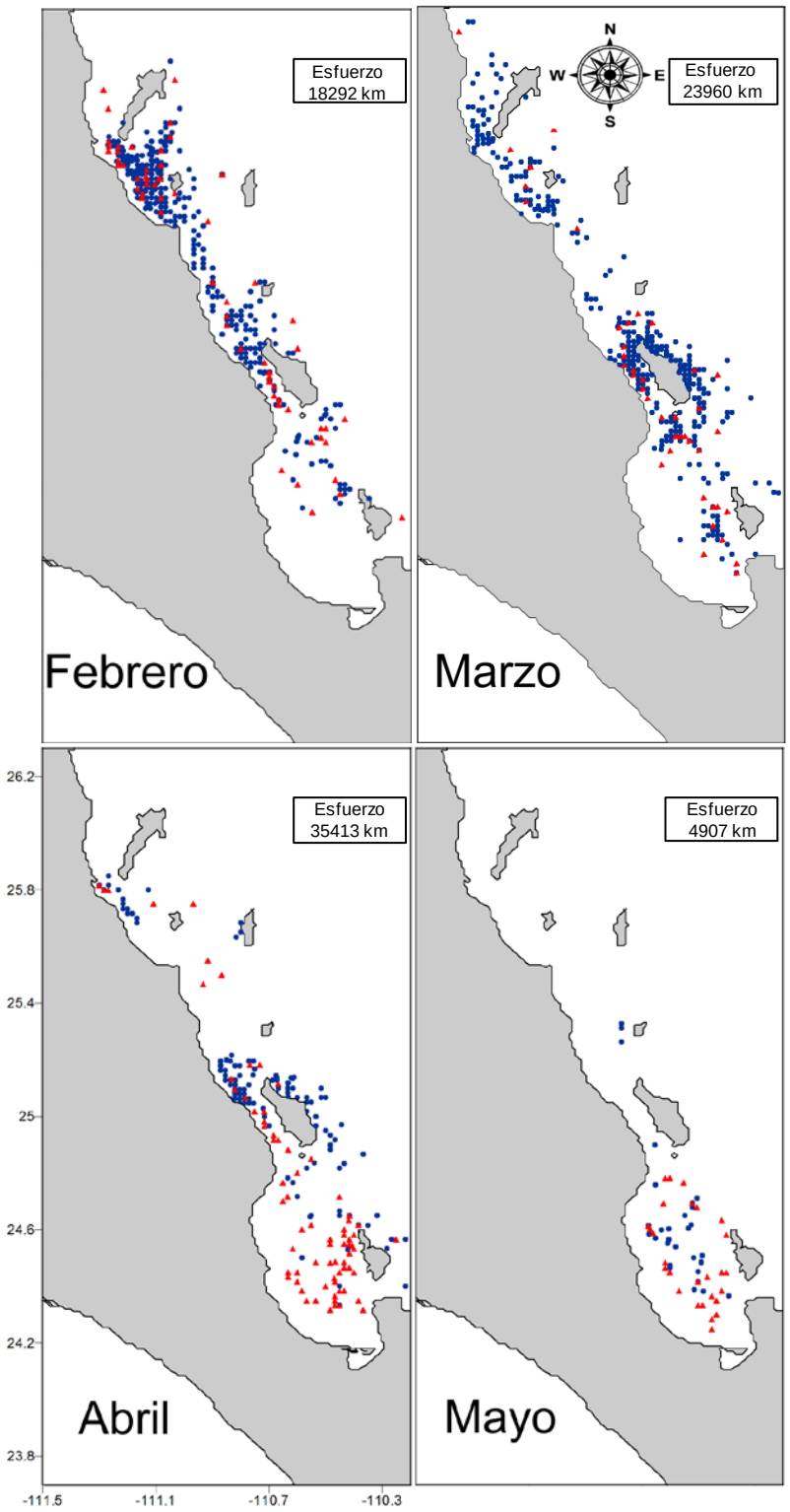


Figura 4. Distribución de la ballena azul (círculos azules) y la ballena de aleta (triángulos rojos) en invierno-primavera en el SOGC, mostrando el esfuerzo total para cada mes de la temporada.

7.1.2. Segregación espacio-temporal

El grado de segregación espacial por mes varió en ambas zonas estudiadas (Figura 5c y d). En La Paz, la segregación entre la ballena azul y la ballena de aleta fue alta en el mes de febrero (*SC*= 0.81) y descendió conforme avanza la temporada, registrándose la segregación más baja en el mes de mayo (*SC*= 0.19). En la zona de Loreto, la segregación espacial tuvo un comportamiento inverso, inició la temporada con valores medios (*SC*= 0.59) y fue ascendiendo hasta llegar a la máxima segregación posible en el mes de mayo (*SC*= 1).

El resultado del coeficiente de segregación entre las ballenas en el SOGC se relacionó con las abundancias relativas de ambas especie (Figura 3) ya que la segregación espacial varía dependiendo de la proporción de animales cercanos en una misma área (Conradt, 1998). Por ejemplo, en la zona de Loreto se observó un alto coeficiente de segregación, ya que la abundancia relativa de una especies con respecto a la otra fue mucho mayor, contrariamente, en la Paz los coeficientes de segregación fueron medios ya que la abundancia de ambas especies fue relativamente similar, a excepción del final de la temporada donde se observa una mayor mezcla, debido al incremento de ballenas de aleta en el SOGC y al descenso en número de ballenas azules en la misma zona.

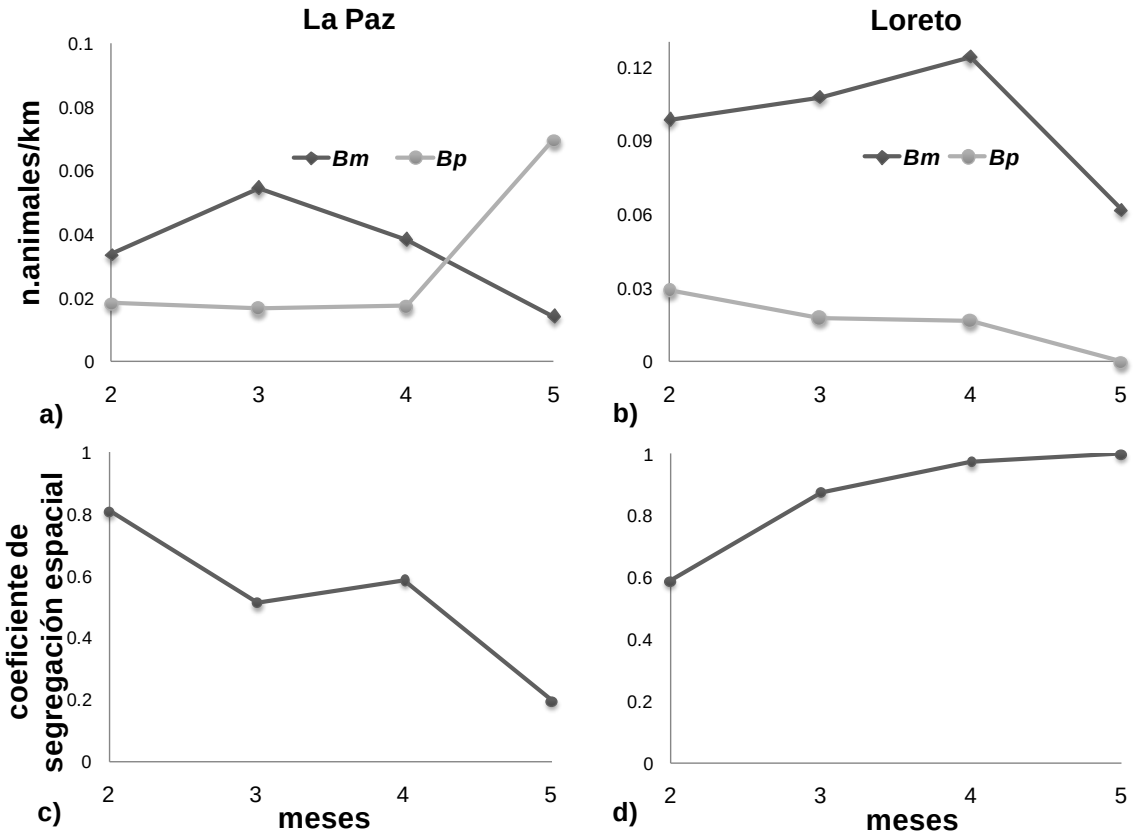


Figura 5. Variación temporal de la abundancia relativa entre la ballena azul y de aleta en **a)** La Paz y **b)** Loreto y grado de segregación espacial entre la ballena azul y la ballena de aleta por mes del periodo invierno-primavera en **c)** La Paz y **d)** Loreto.

7.2. ANÁLISIS DE REMANENTES DUROS EN HECES

La materia orgánica correspondió a más del 90 % en los elementos mayores y no fue posible identificarla. Aproximadamente el 2 % de los remanentes fueron restos de acantocéfalos, decápodos, insectos, fragmentos de esponjas, moluscos, así como una vértebra y huevos de peces pequeños. Estos fueron contemplados como presas esporádicas de las muestras, por lo tanto no fueron considerados para aplicar un índice de ocurrencia o abundancia en el espectro trófico de cada ballena. Aunque no es un componente alimentario, el remanente más común, en un 22 % de las muestras de ballena azul y 29 % de las muestras de ballena de aleta, fueron los parásitos acantocephalos adultos de la familia *Polymorphidae* (Rocha-Gosselin, 2009).

De los elementos menores se encontró como único componente reconocible mandíbulas de eufáusidos, las cuales correspondieron a la especie *N. simplex* con un porcentaje de ocurrencia del 100 % y mandíbulas del eufáusido *Euphausia eximia,* fueron únicamente detectadas en muestras de ballena azul, con un porcentaje de ocurrencia < 7.5 %. Este resultado confirma a *N. simplex* como principal presa de ambas ballenas en el SOGC. Aunque el número de mandíbulas en cada muestra es considerable, no supera a más del 10 % de la materia orgánica encontrada, por lo tanto, más del 90 % del remanente fecal es materia orgánica amorfa imposible de identificar morfológicamente.

Mediante la regresión lineal propuesta por Del Ángel-Rodríguez (1997) se estimó la longitud total de los eufáusidos ingeridos, a partir de la longitud total de 7800 mandíbulas de *N. simplex* extraídas de las muestras fecales. Los resultados muestran tallas de los estadios entre 2 a 16 mm (Figura 6) lo cual indica que los rorcuales consumen larvas (< 6 mm) juveniles (6 a 7 mm) y adultos (> 8 - 16 mm) (Lavaniegos-Espejo, 1995) pero en una mayor proporción de juveniles y adultos de entre 8 y 10 mm. Aunque se encuentren representadas todas las clases de edades de *N. simplex* en la dieta de las ballenas, el 35 % de las muestras presentan una distribución bimodal, debido a que la frecuencia de aparición de las tallas que representan la transición de juveniles a adultos (7 a 8 mm) se vio reducida (Anexo 2 y 3).

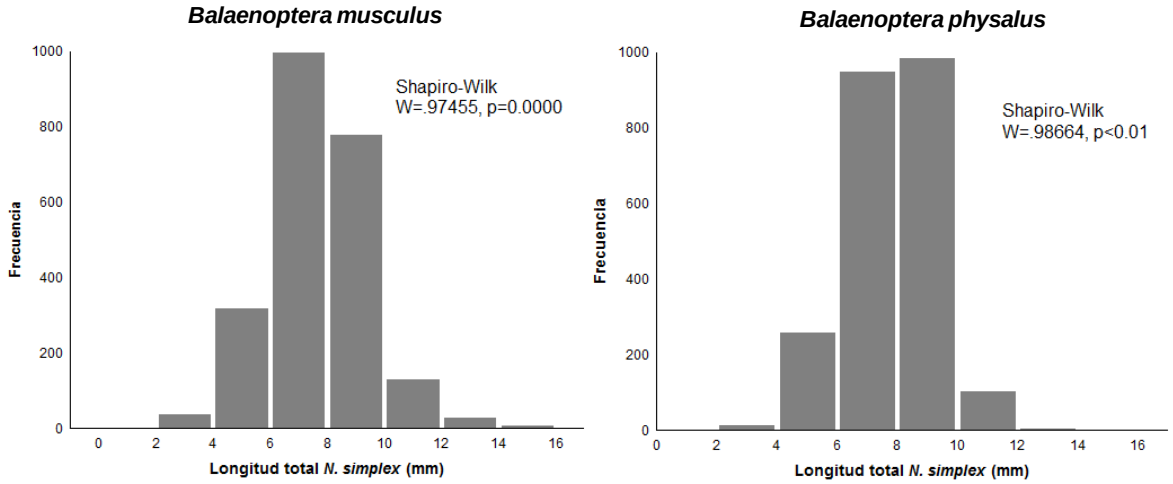


Figura 6. Histogramas de frecuencia de la longitud total de *N. simplex* ingeridos por la ballena azul y la ballena de aleta

Se hallaron diferencias significativas (Tabla 2; U= 1962796; *p*<0.001) en las tallas de *N. simplex* consumidas por los rorcuales entre las zonas estudiadas. En la zona de La Paz se registraron en promedio las mayores tallas ($\bar{x}$= 7.86) y en la zona de Loreto las menores ($\bar{x}$= 7.29). Por lo tanto, se separaron las muestras entre las zonas para realizar la comparación interespecífica de forma independiente. Con resultados significativamente diferentes entre los rorcuales en cada una de las zonas (tabla 2). El análisis de varianza mensual indicó variabilidad entre las tallas a lo largo de la temporada (figura 7) y se hallaron diferencias significativas para la zona de La Paz (H:7; n= 4181; *p*<0.001) en los meses de febrero (*B. musculus* $\bar{x}$: 7.5, s= 1.0 y *B. physalus* $\bar{x}$: 8.35, s=1.25) y mayo (*B. musculus* $\bar{x}$:7.1, s= 1.3 y *B. physalus* $\bar{x}$: 7.6, s=1.0). Debido a que en la zona de Loreto no se obtuvieron muestras de las dos especies en toda la temporada, solo se pudo comparar el mes de febrero (*B. musculus* $\bar{x}$: 6.6, s= 1.6 y *B. physalus* $\bar{x}$: 7.5, s=1.4). Como generalidad las mayores tallas ingeridas por ambos rorcuales se encontraron en el mes de marzo en la zona sur (*B. musculus* $\bar{x}$:8.7, s= 2.8 y *B. physalus* $\bar{x}$: 8.35, s=1.25).

Tabla 2. Comparación de las tallas de *N. simplex* consumidas (mm) por *B. musculus* y *B. physalus* en la zona La Paz y zona Loreto y ambos rorcuales en cada zona independientemente.

	U	***p***	**$\bar{x}$ (mm)**		**S**	
Loreto **vs** La Paz			**Loreto**	**La Paz**	**Loreto**	**La Paz**
	1962796	<0.01	7.86	7.29	1.45	1.15
La Paz *B. musculus* **vs** *B. physalus*			***B. musculus***	***B. physalus***	***B. musculus***	***B. physalus***
	1005812	0.003	7.9	7.6	1.5	1.25
Loreto *B. musculus* **vs** *B. physalus*	259396.5	<0.01	6.8	7.51	1.5	1.5

La variabilidad en la población analizada es muy amplia (tabla 2), así que, aunque existan diferencias significativas en las tallas de *N. simplex* ingeridas por las ballenas, se encuentra un alto grado de incertidumbre en el análisis con diferencias significativas que no logran separar a los eufáusidos en diferentes clases de edades.

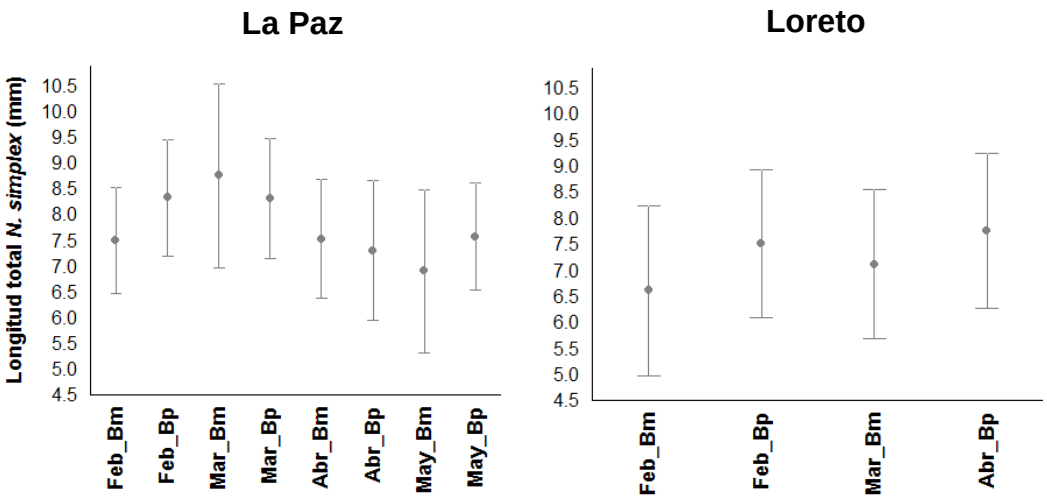


Figura 7. Comparación de las tallas de *N. simplex* consumidas (mm) entre *B. musculus* y *B. physalus* en la zona La Paz y zona Loreto.

7.3. ANÁLISIS DE ESCATOLIGÍA MOLECULAR

7.3.1. Extracción de ADN

La pureza del ADN extraído se evaluó con un espectrofotómetro lector de absorbancia y en todos los casos se obtuvo ADN de alta pureza, con valores que oscilaban entre los 18.23 y los 26.03 μg •ml-^{1}. Por lo tanto, se consideró que el proceso de extracción produjo un ADN de buena calidad y cantidades suficientes para proceder con el análisis.

7.3.2. Amplificación por PCR, clonación y secuenciación

Los pares de oligonucleótidos Pztele16S; Copep28S y EufaLSU amplificaron ADN en los 10 grupos compuestos examinados. De esta forma, el análisis de PCR confirmó la presencia de eufáusidos (Figura 8a) como presa de ambas ballenas, y generó información sobre dos nuevos componentes tróficos como peces teleósteos y copépodos, en la dieta de los rorcuales en el SOGC (Figura 8b y c), los cuales no fueron identificados con el análisis de remanentes duros en heces y

en ningún estudio previo sobre la dieta de la ballena azul. El par de oligonucleótidos Cal28S no amplificó el fragmento esperado para calamar en ninguno de los grupos compuestos analizados (Figura 8d), hecho que descartó la hipótesis de una posible ingestión de calamares por parte de ambos rorcuales en el SOGC.

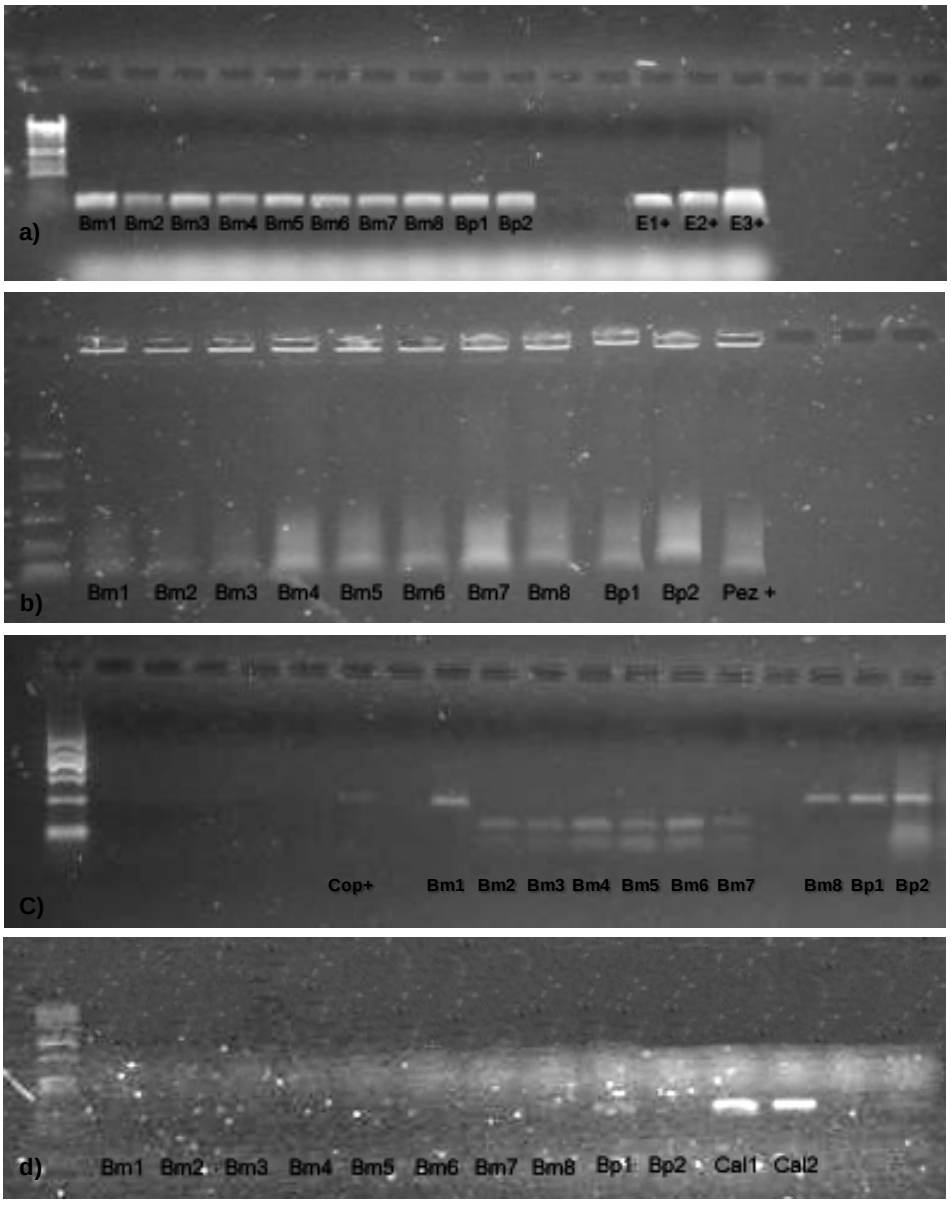


Figura 8. Gel de agarosa al 2 % mostrando el producto de PCR con los oligonucleótidos a) EufaLSU, b) Pztele16S, c) Copep28S y d) Cal28S, en los 10 grupos compuestos*:* Bm1 hasta Bm8 = muestras de ballena azul y Bp1 y Bp2 = muestras de ballena de aleta. E1 a E3, Pez, Cop y Cal1 a Cal2 son los controles positivos de las presas evaluadas.

Para confirmar la presencia de ADN de peces teleósteos y eufáusidos en las 49 muestras originales, se corrieron reacciones individuales, obteniendo resultados positivos de ambas presas para el 100 % de las muestras analizadas (Figura 9 y 10). Debido a limitaciones logísticas no se pudo realizar un nuevo PCR para la identificación de copépodos en las muestras originales, por lo cual, no se logró identificar el porcentaje general de aparición. Sin embargo, el resultado de PCR en los grupos compuestos indicó que tanto la ballena azul como la ballena de aleta ingieren copépodos.

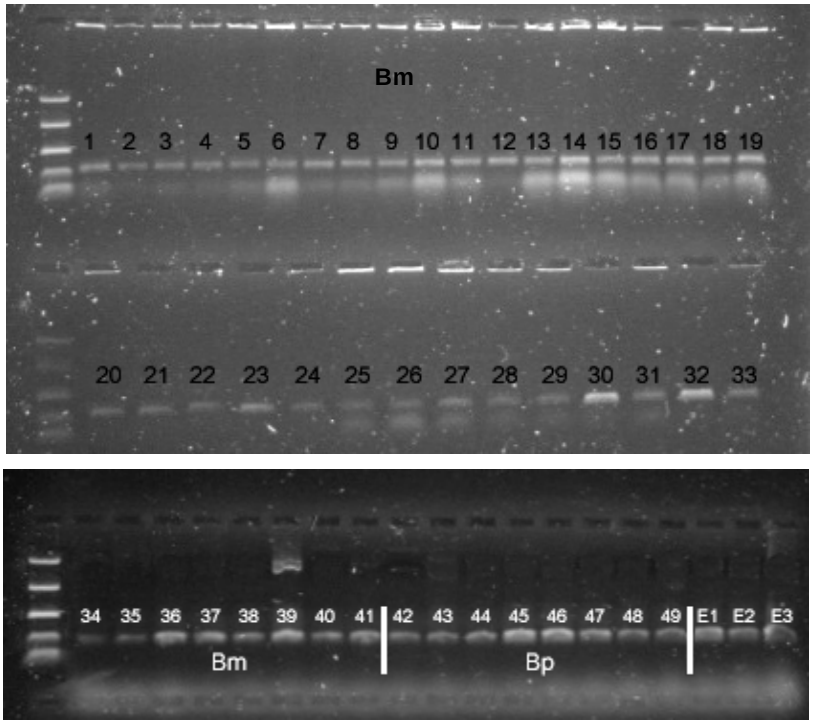


Figura 9. Gel mostrando el producto de PCR con el oligonucleótido EufaLSU en las muestras originales. Muestras 1 a 41 pertenecen a ballena azul y muestras 42 a 49 pertenecen a ballena de aleta. E1, E2 y E3 son los controles positivos de eufáusidos.

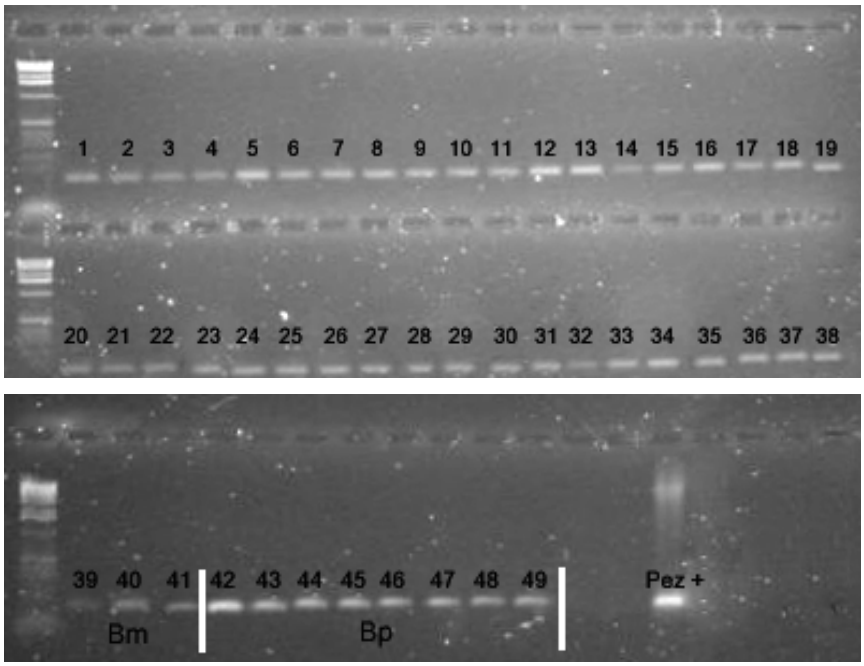


Figura 10. Gel de agarosa al 2 %mostrando el producto de PCR con el oligonucleótido Pztele16S en las muestras originales. Muestras 1 a 41 pertenecen a ballena azul y muestras 42 a 49 pertenecen a ballena de aleta. Pez es el control positivo para peces teleósteos.

El porcentaje de eficiencia en la clonación de los productos de PCR para la ballena azul fue de 26.71 % y para la ballena de aleta 28.57 %. Se extrajeron y purificaron 27 plásmidos o vectores que contenían las secuencias objetivo para la identificación de eufáusidos (13 de ballena azul y 14 de ballena de aleta) y 22 plásmidos para la identificación de peces teleósteos (11 de Ballena azul y 11 de ballena de aleta). En total, se analizaron 7 secuencias de la amplificación del oligonucleótido EufaLSU para eufáusidos con un producto esperado de ~ 260 pb (4 de ballena azul y 3 de aleta) y 9 de Pztele16S para peces teleósteos con un producto esperado de ~ 100 pb (5 de ballena azul y 7 de ballena de aleta).

El algoritmo *Blast* indicó significancia estadística, con valores probabilísticos (*E-value*) menores a 0.05 (provocados al azar) entre las alineaciones de las secuencias amplificadas de eufáusidos y las reportadas en la biblioteca de genes del NCBI. Las mayores coincidencias fueron con las secuencias correspondientes al gen LSU nuclear de las especies *Euphausia superba* (número de acceso al taxa de NCBI AF169717.2, Jarman *et al.,* 2000), *Meganyctiphanes norvegica* (AY744900.1, Giribet *et al.,* 2005) y *Nematoscelis megalops* (AF296709.1,

Jarman, 2001). Esto mismo sucedió con las secuencias para peces teleósteos, las cuales coincidieron en su totalidad con secuencias del gen 16S del rADN mitocondrial, únicamente de la familia Mictophidae entre todas las posibles familias de peces teleósteos. Las mayores similitudes coincidieron *Krefftichthys anderssoni, Tarletonbeania taylori* (AB042176.1 y AB042185.1, Yamaguchi *et al*., 2000a) y *Diaphus luetkeni* (AB055887.1, Yamaguchi *et al.,* 2000b).

Dichas secuencias pertenecen a organismos reportados por diferentes autores en el banco de genes del NCBI, la mayoría con patrones de distribución circumpolar, y su similitud con las secuencias objetivo se debe considerar como representativa para un taxón, más no como referencia de la especie misma, debido a que no se han reportado los genomas correspondientes a la amplificación de cada oligonucleótido de las posibles especies presa del Golfo de California, las cuales podrían haber tenido una coincidencia mayor con las secuencias objetivo.

El análisis de NJ agrupó en un único taxón las secuencias obtenidas del oligonucleótido EufaLSU con la secuencia de referencia AF169717.2 (Figura 11) y las secuencias para la familia Mictophidae se agruparon en dos taxones diferentes con las tres secuencias de referencia (Figura 11). Esto indica que las presas de la ballena azul y de la ballena de aleta corresponden a tres diferentes unidades taxonómicas operacionales (OTU).

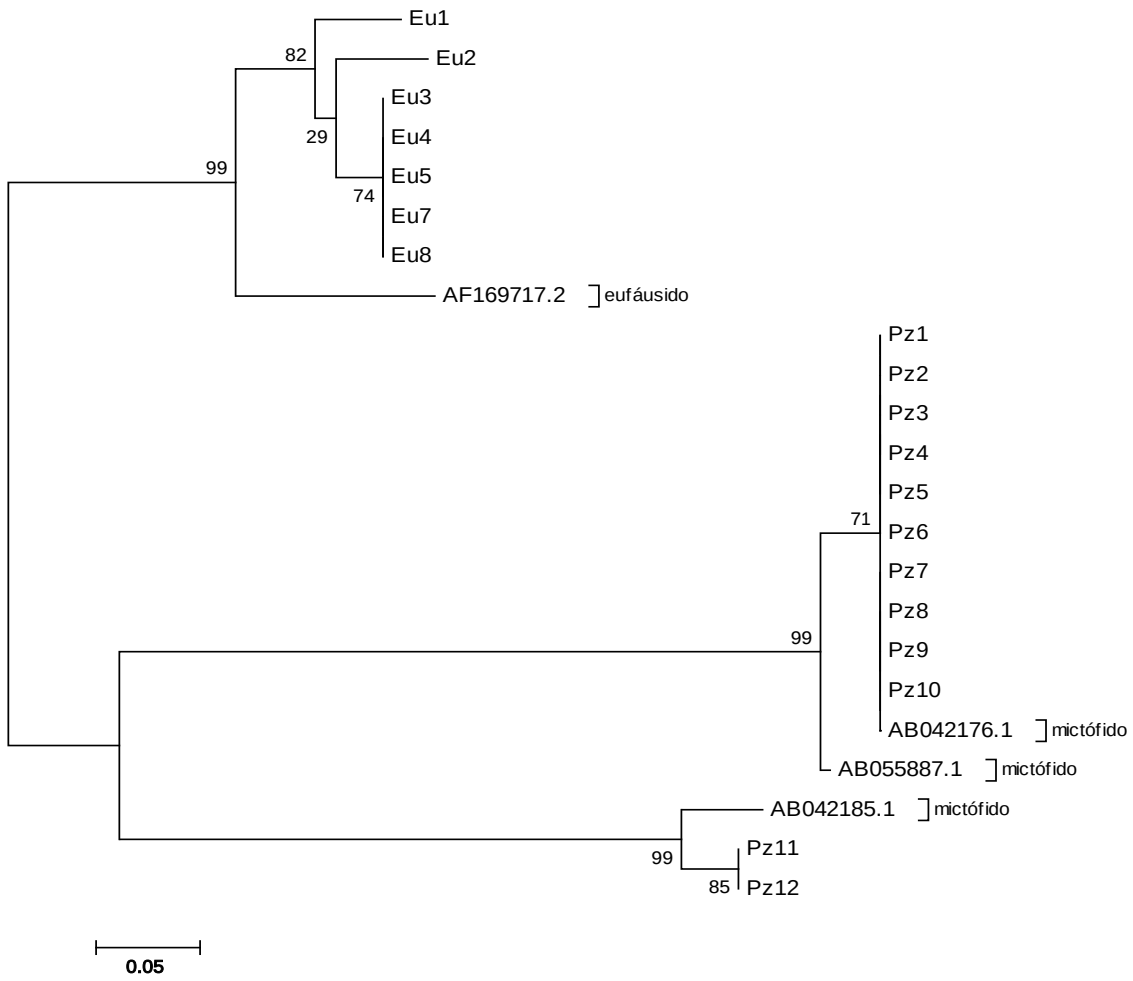


Figura 11. Árbol filogenético elaborado a partir del algoritmo "neighbour joining". Se muestra el grado de similitud entre las secuencias objetivo de las presas de ballena azul y de aleta y las secuencias de referencia. Los valores de cada rama del árbol indican tres diferentes OTU con un porcentaje de similitud mayor al 98 %. El nombre de los clones o secuencias objetivo son: **Eu** para eufáusidos y **Pz** para peces teleósteos y las secuencias de referencia se reportan con los números de acceso al taxa del banco de genes de NCBI.

Se realizó un último PCR con el oligonucleótido familia-específico Micto12S, para identificar el porcentaje de aparición de mictófidos en las 49 muestras originales. El resultado obtenido fue de 97.6 % de aparición en las muestras fecales de la ballena azul y de un 100 % de aparición en las muestras de la ballena de aleta (Figura 12). La ausencia de amplificación en la muestra de ballena azul (muestra 38), puede deberse a que efectivamente ese rorcual no ingirió mictófidos previamente a la recolección de sus heces, o también, pudo deberse a un error humano (i.e. pipeteo) o enzimático durante el proceso de PCR.

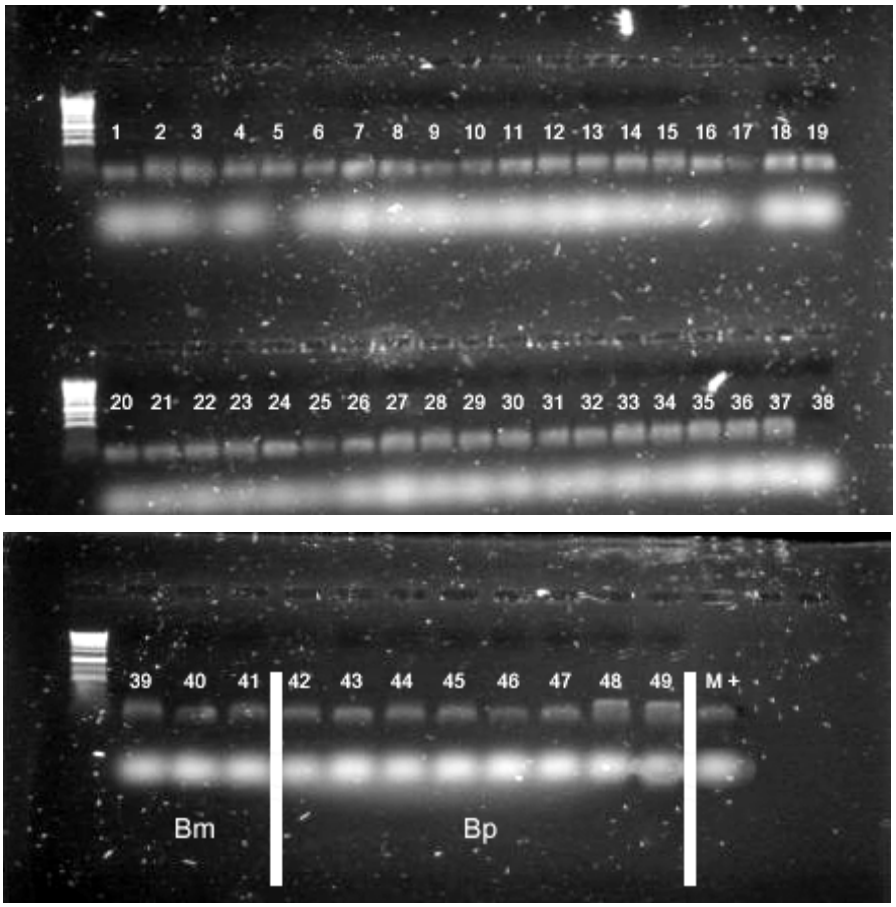


Figura 12. Gel de agarosa al 2% mostrando el producto de PCR con el oligonucleótido Pztele16S en las muestras originales. Muestras 1 a 41 pertenecen a ballena azul y muestras 42 a 49 pertenecen a ballena de aleta. Pez es el control positivo para peces teleósteos.

8. DISCUSIÓN

Relacionar información sobre detalles alimentarios, datos de abundancia y de distribución para varias especies, provee una valiosa plataforma para el entendimiento de la organización del ecosistema y el análisis de las relaciones interespecíficas (Gonzalez-Solís *et al.,* 2008; Yvon-Durocher *et al.,* 2008). Con el fin de realizar una interpretación sobre estos temas para la ballena azul y la ballena de aleta en el SOGC, la presente discusión se dividirá en un análisis sobre la dieta, la distribución y segregación espacio-temporal y se considerará la

posibilidad de señalar a estos grandes rorcuales como potenciales indicadores del ecosistema.

8.1. DIETA DE DOS RORCUALES SIMPÁTRICOS

La combinación de dos métodos independientes para el análisis trófico (escatología molecular y remanentes duros en heces) permitió identificar y enumerar con detalle la dieta ingerida por un depredador, además de que puede ser utilizada para cuantificar la proporción de los componentes ingeridos (Deagle *et al.,* 2005; Deagle & Tollit, 2007; Casper *et al*., 2007a y 2007b). Aunque no se determino la abundancia de cada componente, el análisis de remanentes duros en heces confirmó al eufáusido *N. simplex* como principal componente trófico para ambas especies en la época de invierno-primavera en el SOGC (Gendron, 1990, Del Ángel-Rodríguez, 1997 y Mejía-Acosta, 2003). Por otro lado los eufáusidos fueron la única presa que se detectó en ambas especies de ballenas con ambos métodos para todas las muestras analizadas.

Es frecuente observar que la ballena azul y la ballena de aleta compartan la misma dieta de eufáusidos en el Pacífico Norte (Nemoto, 1957), Atlántico Norte (Gaskin, 1982; Watkins *et al.,* 1984), Océano Índico (Branch *et al.,* 2007) Océano Austral (Jarman *et al.,* 2002; 2004) y Golfo de California (Del Ángel-Rodríguez, 1997). Sin embargo, la ballena de aleta es considerada como una especie generalista y oportunista (Gaskin, 1982; Notarbartolo-Di Sciara *et al.,* 2003) que puede alimentarse de peces, copépodos y calamares (Nemoto, 1957) y puede presentar flexibilidad trófica cuando sus principales presas escasean (Ben-David *et al*., 1997 y Jaume-Schinkel, 2004), mientras que la ballena azul es ampliamente considerada como una especie estenófaga (Nemoto, 1957; Gaskin, 1982; Yochem & Leatherwood, 1985).

Con el análisis de remanentes duros en heces se identificaron esporádicamente restos de difícil asignación taxonómica como decápodos, insectos, restos de esponjas, moluscos y una vértebra de pez. Sin embargo,

fueron tan escasos que no se consideraron componentes alimentarios y su presencia podría deberse a la enorme cantidad de agua que las ballenas filtran en su alimentación. Aunque no sea un componente trófico, lo más abundante entre los elementos mayores fueron endoparásitos acantocéfalos de la familia *Polimorphidae* (Rocha-Gosselin, 2009), que habitan en el tracto intestinal de los mamíferos marinos y que pueden provenir del consumo de eufáusidos. Este mismo resultado coincide con lo que reportó Mejía-Acosta, (2003) para ballenas azules en la misma área de estudio. Con respecto a la carga parasitaria de la dieta de ambos rorcuales *N. simplex* tiene una alta diversidad de parásitos que consiste en cinco tipos de ectoparásitos y siete tipos de endoparásitos incluyendo los acantocéfalos de la familia *Polimorphidae* (Gómez-Gutiérrez *et al*., 2010).

Por si solo, el análisis de remanentes duros en heces puede subestimar la dieta de los depredadores (Casper *et al*., 2007b), y es difícil reconocer especies altamente digeribles como peces o calamares que están compuestas en gran medida de agua. Casos similares se han detectados en cachalotes (*Physeter macrocephalus*) (Smith & Whitehead, 2000) y ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*) (Kieckhefer, 1992). Por lo tanto, el análisis de escatología molecular, que es más sensible para identificar a las presas presentes en las heces, reveló un mayor espectro trófico del que se había supuesto para estos rorcuales en el Golfo de California.

Se logró identificar un consumo generalizado para ambos rorcuales de dos nuevos componentes tróficos en el Golfo de California, los copépodos, y peces de la familia Mictophidae. Como se mencionó anteriormente son presas que se han reportado para las poblaciones de ballena de aleta particularmente en el Pacífico norte, pero que no habían sido detectados en la población residente del Golfo de California. En el caso de la ballena azul, la presencia de estos nuevos componentes no han sido reportados para ninguna población en el mundo. Kawamura (1980) hizo una revisión sobre el alimento de varios balaenopteridos y encontró que la ballena azul también podría incorporar casualmente copépodos y peces, dichos eventos esporádicos no cambiaron la percepción generalizada de

que es una especie estenófaga. El hecho de que se identificó ADN de mictófidos en todas las muestras y ADN de copépodos en todos los grupos compuestos, indica un consumo importante de dicho componente trófico (Deagle *et al*., 2005; Casper *et al*., 2007a;b). No obstante hasta que no se conozcan las proporciones relativas de estas presas, no se podrá valorar la importancia de estos dos nuevos componentes alimentarios en la dieta.

Es importante destacar que uno de los beneficios de utilizar la escatología molecular es la posibilidad de detección de cualquier presa sin que importe su integridad morfológica (Masland *et al*., 2010). Basándose únicamente en datos del análisis morfológico en heces se hubiera podido presentar una subestimación sobre la composición trófica de las ballenas en el SOGC. En conclusión el análisis morfológico sugiere que los animales consumen una dieta monoespecífica, pero la inclusión de datos moleculares, sugieren que la dieta es más diversa.

8.2. DISTRIBUCIÓN Y SEGREGACIÓN ESPACIO-TEMPORAL

Una de las categorías conceptuales de las relaciones interespecíficas entre especies simpátricas y con dietas altamente similares es la interacción de competencia. Sin embargo, existen formas que permiten la coexistencia de dos especies semejantes en una misma zona geográfica (Praca & Garnier, 2008). Una de ellas es la segregación espacio-temporal (Howard & Harrison, 1984; Whitehead *et al*., 2003), la cual se basa en que entre mayor similitud haya entre las especies (i.e. equivalencia entre biomasa corporal, dieta y distribución), menor será su superposición geográfica o de hábitat y más vulnerable será su coexistencia en la zona de superposición (Kauffman, 1993).

El conocimiento referente a la segregación de hábitat en cetáceos se ha obtenido sobre todo por modular la respuesta del movimiento de los animales a las condiciones ambientales (Nicol *et al*., 2000; Etnoyer *et al*., 2004; Ferguson, 2005; MacLeod *et al*., 2005; Ballance *et al*., 2006), lo cual ha permitido la identificación y

diferenciación de hábitat o la especialización ó diversificación de su dieta (Piatt *et al*., 1989 ; Shane, 1995; Whitehead *et al*., 2003; Praca & Garnier 2008).

Los resultados sobre la alimentación de la ballena azul y de aleta en el SOGC indican que ambos rorcuales tienen prácticamente el mismo espectro trófico, debido a que es exactamente igual la composición de su dieta, lo que puede favorecer a una posible competencia interespecífica. La similitud sugiere que podrían compartir zonas de alimentación, y aunque durante invierno y primavera el SOGC se ha documentado como zona de alimentación para las dos especies, los resultados de distribución indican que se alternan en el uso de la zona. La relación entre la abundancia relativa de la ballena azul con respecto a la ballena de aleta es inversa (Figura 3) y las abundancias relativas fueron opuestas a lo largo de toda la temporada. Estas diferencias son indicio de que se presenta una segregación temporal en el movimiento de las ballenas dentro del área de estudio, lo que apoya las conclusiones de Del Ángel-Rodríguez (1997) para la Bahía de La Paz.

Si bien, la composición de las presas por ambos rorcuales es la misma, el análisis de varianza indica diferencias significativas en las tallas ingeridas entre las especies pero con una desviación estándar elevada (Tabla 2). Lo que sugiere que no se puede asumir una selectividad o segregación por parte de los rorcuales a un grupo de talla específico y que las diferencias encontradas posiblemente se debe a que las ballenas están segregadas espacial y temporalmente o a que existen otros factores, como temperatura, oxigeno disuelto y productividad, que afectan la distribución de los eufáusidos (Tremblay, 2008). Las diferencias de tallas encontradas entre los meses de febrero a mayo podrían corresponder al crecimiento ontogénico de *N. simplex* en el SOGC, lo cual coincide con que en la zona de La Paz las mayores tallas de eufáusidos ingeridos se observen en el mes de marzo donde se reporta un incremento de adultos de *N. simplex* (De Silva-Dávila y Palomares-García, 2002). Mackintosh (1974) también observa una variación temporal en la talla de de *Euphausia superba* ingerida por ballenas azules en la Antártida.

La segregación entre ambos rorcuales ha sido identificada en la Bahía de La Paz (Del Ángel-Rodríguez, 1997; Pardo, 2009) y en una visión general de todo el golfo por Chávez-Andrade (2006). La integración de la información sobre condiciones oceanográficas y aprovechamiento de los posibles recursos bióticos presentes en el área, permitieron identificar diferencias en el hábitat espacial (Chávez-Andrade, 2006) y temporal (Pardo, 2009). El presente trabajo identifica el grado de segregación entre las dos ballenas en el SOGC, el cual varió en espació y en tiempo posiblemente en función del movimiento de los rorcuales dentro del área de estudio (Figuras 4 y 5).

Gendron (2002) indicó que las ballenas azules empiezan a llegar al Golfo de California a inicio de invierno, y su permanencia en el Golfo de California se puede prolongar hasta el mes de junio. Desde su entrada al Golfo las mayores concentraciones de ballena azul se encuentran en zonas profundas y oceánicas y no se observa ninguna afinidad específica con alguna región del mismo (Chávez-Andrade, 2006). Su distribución se relaciona directamente con las zonas de mayor abundancia de *N. simplex* (Gendron, 2002, Chávez-Andrade, 2006). En contraste para la ballena de aleta, aún son controversiales los movimientos intra-anuales en el Golfo de California. Recientemente se ha propuesto es que la población residente del Golfo se subdivide en manadas de migración-alimentación, que tienen movimientos independientes por distintas localidades (Martínez-Villalba, 2008). Las hipótesis más conservadoras coinciden con que en invierno y primavera se concentra la población en la zona norte y centro del Golfo (Rojas-Bracho, 1984; Gallo-Reynoso, 1984, Gendron, 1993; Urbán *et al.,* 2005) y a finales de primavera e inicios de verano puede desplazarse hacia el suroeste del Golfo (Gendron, 1993; Jaume-Schinkel, 2004) o bien, seguir concentrada en el centro, concretamente en el área del cinturón insular y el canal de ballenas (Rojas-Bracho, 1984; Tershy *et al.,* 1990; Tershy *et al*., 1993; Gallo-Reynoso *et al*., 2005) mientras que en otoño la población se agrupa en la costa occidental y de nuevo hacia el norte y centro del Golfo de California (Rojas-Bracho, 1984).

La relación entre el coeficiente de segregación y la abundancia relativa indica que hay una alternancia específica en el uso del SOGC. Desde febrero a abril la ballena azul domina en abundancia, hecho que infiere sobre los altos valores de segregación espacial registrados para esos meses. No obstante, a partir de abril cuando la ballena azul empieza a dejar el Golfo de California (Gendron, 2002) la segregación empieza a disminuir hasta llegar al punto mínimo en mayo, lo cual sugiere un desplazamiento de la ballena de aleta hacia el sur del Golfo (Figura 4), como lo proponen Gendron (1993) y Jaume-Schinkel (2004). La misma superposición geográfica observada en esta época, posiblemente también se presente a inicios de invierno cuando la ballena azul entra al Golfo de California; lo cual podría permitir una relación interespecífica más directa y posiblemente tanto al inicio como al final de la temporada migratoria de la ballena azul en el Golfo de California, sean puntos críticos de interferencia pasiva que definan la segregación entre las dos ballenas en el resto de la temporada.

8.3. CONCEPTOS DEL ECOSISTEMA BASADO EN LA DIETA DE LOS RORCUALES

La complejidad del ecosistema marino ha forzado a los ecologistas a desarrollar novedosos métodos alternativos para registrar el cambio ambiental. Uno de ellos se basa en utilizar especies significativas en el ecosistema que pueden indicar la dinámica de los mismos (Hilty & Merenlender, 2000). Los mamíferos marinos son considerados por muchos autores como eficientes “centinelas” marinos, debido a que son longevos, tienen una amplia distribución y son bioacumuladores de toxinas (Bossart, 2006).

El análisis de remanentes duros en heces identificó que el 35% de las muestras analizadas tienen un comportamiento bimodal con lo que respecta a la talla de *N. simplex*, debido a que se detecta una menor proporción de las tallas de 7 a 8 mm ingeridas por los rorcuales, que corresponden a la primera madurez sexual de la especie (Lavaniegos-Espejo, 1995). El comportamiento migratorio de los eufáusido en la columna puede estar relacionado con las actividades

reproductivas (Nicol, 1984 Gendron, 1992; Tarling, 2003) y se pueden observar enjambres superficiales de reproducción (Nicol, 1984 Gendron, 1992) y diferentes tallas modificas por el desove y la actividad de muda (Tarling, 2003). Por lo tanto en los eventos reproductivos algunas tallas pueden encontrarse en menor proporción, sobre todo las intermedias. Sin embargo, la generalidad indican que *N. simplex* en el Golfo de California está integrado en un estrato no mayor a los 400 m donde realiza una distribución vertical limitada con respecto a otras especies de eufáusidos (Tremblay, 2008), lo cual coincide con la variabilidad de tallas de *N. simplex* observada en la dieta de los rorcuales.

La dieta de la población de ballena de aleta en el Pacífico norte se basa en zooplancton. Principalmente consumen eufáusidos seguidos, en una proporción menor de copépodos. Este comportamiento esta atribuido a las tendencias de alimentación descritas para la especie y a la abundancia de ambos componentes en las aguas del Pacífico norte (Nemoto, 1957; 1959; Flinn *et al*., 2002). Los mismos autores indican presencia de peces en los contenidos estomacales pero con bajos porcentajes de ocurrencia en cientos de estómagos analizados (< 5 %). Esto coincide con los valores de ocurrencia registrados por Del Ángel-Rodríguez (1997) quien encontró restos de peces en dos de 28 muestras fecales.

En cambio, la dieta de la ballena azul en el pacifico norte es descrita como estenófaga, debido a que los estómagos fueron compuestos de eufáusidos como elementos de su dieta (Nemoto, 1957; 1959). Sin embargo, en el Golfo de California Del Ángel-Rodríguez (1997) encontró en una muestra otolitos de peces de la familia Myctophidae, coincidiendo con el resultado del presente trabajo.

Las ballenas zooplanctófagas pueden consumir varias toneladas diarias de eufáusidos y se estimo que pueden filtrar un aproximado de 32.000 m^3 de agua en 8 horas de ingestión a una velocidad promedio de 40 $km \bullet h^{-1}$ (Brodie *et al.,* 1978). En dicha filtración es factible que puedan incorporar componentes ajenos a su propia dieta, especialmente otros integrantes del mesozooplancton y sus depredadores más pequeños. Esta alimentación de acompañamiento es una de las hipótesis que se proponen para explicar la aparición de ADN de copépodos y

mictófidos en las heces de la ballena azul considerada estenófaga (Gaskin, 1982; Yochem & Leatherwood 1985) y de la ballena de aleta un poco más eurífaga, pero que hasta la fecha no se ha demostrado la presencia de presas diferentes a los eufáusidos en el Golfo de California (Del Ángel-Rodríguez, 1997).

En el Golfo de California, los copépodos son un componente abundante y en la mayor parte de los casos es el grupo más diverso e importante en el mesozooplancton (Alldredge *et al.,* 1984; Jiménez-Perez y Lara-Lara, 1988). Adicionalmente, las larvas de mictófidos *Benthosema panamense* y *Triphoturus mexicanus* figuran en esta comunidad, como el primer componente incioplanctónico más abundante del Golfo de California (Ávalos-García *et al.,* 2003; Aceves-Medina *et al*., 2004). Esto coincide con el resultado obtenido con base al análisis "neigbour joing" de las heces, que indica la presencia de dos unidades taxonómicas diferentes de la familia Myctophidae (Figura 11). Sin embargo, dentro de la comunidad larval de mesopelágicos en el Golfo de California, la especie *Vinciguerria lucetia* de la familia Phosichthyidae, se encuentra en densidades equivalentes a la de los mictófidos (Ávalos-García *et al.,* 2003). Por lo tanto, bajo la misma premisa de alimentación de acompañamiento, se hubiera esperado encontrar ADN remanente de esta especie, teniendo en cuenta que el oligonucleótido que se usó para amplificar a peces reconocía cualquier secuencia del gen 16S de la infraclase Teleostei.

El ADN de copépodos encontrado en las heces de las ballenas podría ser también el resultado del alimento de los mictófidos ya que en el día los copépodos son su principal presa. Pero durante la noche, en su migración nocturna hacia la superficie, el primer componente en la dieta de los mictófidos son los eufáusidos (Raymont, 1983; Furuhashi & Simazaki, 1989; Uchikawa *et al.,* 2002; Kosenok *et al.,* 2006). Basado en esto podría argumentarse que la presencia de mictófidos en las heces de las ballenas se debe a una filtración incidental de grupos de mictófidos alimentándose de eufáusidos. Sin embargo, también hay otras especies del Golfo de California, que se alimentan de eufáusidos, e.g. especies de la familia *Clupeidae* (Murphy *et al*., 2007), las cuales tendrían la misma probabilidad de ser

ingeridas por las ballenas y de aparecer en el análisis de escatología molecular. Por lo tanto, si el resultado del análisis hubiera sido únicamente un reflejo de depredación incidental, se esperaría haber detectado, por lo menos otras especies diferentes a los mictófidos o quizá éstos en una proporción menor al 98% de las muestras analizadas.

Por lo tanto, si las ballenas se están alimentando de peces o copépodos en su dieta, surge la incógnita de por qué en zonas del pacífico norte, donde se han hecho análisis directos del contenido estomacal de la ballena azul y de la ballena de aleta no se han identificado restos frecuentes de estas presas (Nemoto, 1957), o en zonas del océano austral donde los análisis de ADN muestran que las ballenas azul y de aleta se alimentan exclusivamente de eufáusidos (Jarman *et al*., 2002; 2004).

Una posible explicación podría sustentarse en las marcadas diferencias latitudinales en la densidad de los eufáusidos que se encuentran en las zonas subtropicales con respecto a las zonas polares (Saunders, 2007). Brinton *et al*. (1986) propusieron que los niveles de biomasa de eufáusidos en el Golfo de California, son intermedios entre las elevadas densidades promedio de la Corriente de California y zonas relativamente menos productivas del Pacífico Oriental Tropical. Lo cual llevaría a suponer que para que las ballenas obtengan la energía requerida, podrían ampliar su espectro trófico.

Esta hipótesis se asemeja a lo propuesto por Collins *et al*. (2008) quienes afirman que los mictófidos juegan un rol importante en la ecología del océano Austral cuando las densidades de eufáusidos disminuyen, ya sea estacionalmente o inter-anualmente. Aunque se ha descrito al océano Austral como un ecosistema dominado por el eufáusido, *Euphausia superba*, sus biomasas en invierno pueden decaer de un 50 a un 80% y es cuando los mictófidos proporcionan una alternativa importante a muchos depredadores dependientes de este eufáusido.

Alrededor del mundo los mictófidos son peces dominantes en las comunidades mesopelágicas, siendo voraces depredadores del mesozooplancton y a la vez

consumidos por peces, mamíferos y aves marinas (Lowry *et al*., 1990; Markaida & Sosa-Nishizaki, 2003). La densidad de mictófidos en todos los océanos es basta y se ha llegado a afirmar que en número superan las mayores abundancias de cualquier vertebrado marino (Ahlstrom *et al.,* 1976). Sin embargo, son pocos los estudios que se han realizado en el Golfo de California sobre la fase adulta de estos animales y la densidad de su biomasa aun es desconocida (com. pers. R. Funes, 2010). Las dos especies que dominan la comunidad de mictófidos en el Golfo (*B. panamense y T. mexicanus*) pueden hacer migraciones verticales nocturnas por encima de los 200 m (Robinson, 1972; De la Cruz-Agüero, 1992), lo cual los hace susceptibles a un eventual consumo de los rorcuales.

Aunque en el Golfo de California se ha reportado que la biomasa de *N. simplex* es alta (Martínez-Gómez, 2009) cabe la posibilidad de que los mictófidos sean un componente energéticamente significativo para las poblaciones de ambos rorcuales en el SOGC. Tershy (1992), propone que la captura de peces implica un gasto energético mayor a la de eufáusidos debido a las diferencias en sus agregaciones y a la velocidad de nado de un grupo con respecto al otro. Pero, ese gasto se reditúa porque el contenido calorimétrico de los peces es más elevado (1.1 – 1.5 Kcal•kg^{-1}) que el reportado para eufáusidos (0,98 kcal•kg^{-1}). El estudio supone que las ballenas pueden reflejar en sus heces una ampliación trófica por la diferencia de la biomasa de eufáusidos en zonas subtropicales con respecto a zonas polares.

Un monitoreo sobre la dieta de los rorcuales enfocado en el análisis fecal podría dar indicios de la salud de los animales y su respuesta a cambios en el ecosistema. Brodie *et al*. (1978) sugieren que a partir de la dieta de ballenas azules en el Atlántico norte se podrían inferir aspectos sobre la abundancia y distribución de los eufáusidos. Los resultados del presente trabajo indican la magnitud de la información que se puede obtener a partir de la dieta de las ballenas y aunado con estudios dirigidos a sus presas se podría generar un marco ambiental enfocado al manejo y conservación de la ballena azul y la ballena de aleta en el Golfo de California.

9. CONCLUSIONES

1. Durante el invierno-primavera existe una segregación del hábitat en la región SOGC entre la ballena azul y la ballena de aleta, coincidiendo con lo reportado por Del Ángel-Rodríguez (1997) y Pardo (2009), para la bahía de La Paz en el periodo de 1993-1995 y 2007-2008.

2. El análisis de estructuras duras en heces confirmó que el eufáusido *N. simplex*, es la principal presa de la ballena azul y la ballena de aleta durante la temporada invierno-primavera, en el SOGC

3. Existe una alta variabilidad en las tallas del eufáusido *N.simplex* consumidas por ambos rorcuales en el suroeste del Golfo de California, lo cual representa la variabilidad en la columna de agua de *N. simplex* en la zona y puede suponer que las estrategias alimentarias de los rorcuales sean las mismas o que variables ambientales, no contempladas, que condicionan la distribución de los eufáusidos afectan la interpretación de los resultados.

4. El grado de segregación espacial entre las ballenas azules y de aleta mostró variación importante, altos índices de segregación en febrero y marzo y relativamente bajos en abril y mayo inducido por un posible desplazamiento norte-sur de las especies en el SOGC.

5. El estudio molecular identifico que la composición trófica de ambas especies de rorcuales consiste en una unidad taxonómica operacional de eufáusidos, dos de mictófidos y miembros del grupo de los copépodos.

6. La combinación de dos métodos independientes como la escatología molecular y los remanentes duros en heces, sirvieron para describir la estructura trófica de las ballenas en el SOGC.

7. El presente y trabajo sugiere que las ballenas adoptan una estrategia de segregación espacial y temporal para evitar una eventual competencia alimentaria en el SOGC.

10. RECOMENDACIONES

1. Con el fin de seguir usando los oligonucleótidos que permitieron obtener los resultados en el presente trabajo, se recomienda determinar la secuencia del gen 16S para las especies mesopelágicas dominantes en el Golfo de California, 28S para la comunidad de copépodos y la subunidad larga del ADN nuclear para *N. simplex, Euphausia eximia* y *Nematoscelis difficilis.* Esto permitirá identificar las especies que hacen parte de la dieta de los rorcuales.

2. Es necesario determinar la proporción ingerida entre los tres componentes tróficos. Para esto se recomienda implementar la metodología de PCR en tiempo real (qPCR), que además de amplificar los productos, cuantifica de forma relativa el producto de la amplificación. Esto se debería hacer a partir de un modelo conceptual que incluya el volumen de agua ingerido y los requerimientos energéticos de cada especie de rorcual para determinar las densidades de cada componente trófico.

1. Todavía existen numerosas dudas sobre la dieta de la ballena de aleta en la época de verano, por lo tanto se recomienda iniciar un esfuerzo de muestreo enfocado en recolectar heces de esa temporada en el Golfo de California, para realizar un análisis de escatología molecular. También se recomienda comparar la dieta de ambos rorcuales en una mayor parte del Golfo de California.

2. Por medio del coeficiente de segregación se recomienda identificar los puntos de superposición geográfica entre los rorcuales en el Golfo de California.

3. Para identificar si existe una relación interespecífica a magnitudes físicas entre la ballena azul y la ballena de aleta, se recomienda iniciar estudios etológicos que analicen el comportamiento de ambas ballenas en las épocas y zonas congregación, por ejemplo de abril a mayo entre las grandes islas y el SOGC. Una posible fuente de información podría ser analizar si se presenta una variación entre las vocalizaciones de las ballenas en tiempo de segregación y en tiempo de baja segregación.

4. Muchos estudios proponen considerar la masa corporal de los animales para determinar la estructura y los patrones del nicho. Por lo tanto para analizar con más detalle las relaciones interespecíficas entre estas dos especies de ballenas y el flujo de energía entre el depredador y la presa, se recomienda integrar, en modelos ecológicos, variables cuantitativas de la dieta, la densidad y la biomasa.

11. BIBLIOGRAFÍA

Acevedo, A. & Burkhart, S. 1998. Seasonal distribution of bottlenose (*Tursiops truncatus*) and pan-tropical spotted (*Stenella attenuata*) dolphins (Cetacea: Delphinidae) in Golfo Dulce, Costa Rica. Biología Tropical, 46(6):91-101.

Aceves-Medina, G.; Jiménez-Rosenberg, P.; Hinojosa-Medina, A.; Funes-Rodríguez, R.; Saldierna-Martínez, R. & Smith, P. 2004. Fish larvae assemblages in the Gulf of California. Journal of Fish Biology, 65:832–847.

Aguilar, A. 2002. Fin whale, *Balaenoptera physalus*. En: Encyclopedia of marine mammals. Perrin, W., Wursig, B. & Thewissen, J. (eds.). San Diego California. Academic Press, p. 47-49.

Ahlstrom, E.H.; Butler, J.L. & Sumida, B.Y. 1976. Pelagic stromateoid fishes (Pisces, Perciformes) of the eastern Pacific: Kinds, distributions, and early life histories and observations on five of these from the Northwest Atlantic. Bulletin of Marine Science, 26(3): 285-402.

Ainley, D., Ballard, G. & Dugger, K. M. 2006 Competition among penguins and cetaceans reveals trophic cascades in the Ross Sea, Antarctica. Ecology, 87: 2080–2093.

Alava, J. 2002. Registros y abundancia relativa de mamíferos marinos durante el Crucero Oceanográfico Insular B/ I ORION (CO-II-2000) en las Islas Galápagos y sus alrededores. En: Acta Oceanográfica del Pacífico. Instituto Oceanográfico de la Armada (INOCAR). Ecuador. 11(1):165-172.

Alldredge, A.; Robison, B.; Fleminger, A.; Tortes, j.; King,. j. & Hamner, W. 1984. Direct sampling and *in situ* observation of a persistent copepod aggregation in the mesopelagic zone of the Santa Barbara Basin. Marine Biology, 80:75-81

Altschul, S.; Gish, W.; Miller, W.; Myers, E. & Lipman, D. 1997. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology, 215: 403–410.

Álvarez-Borrego, S. 1983. Gulf of California. En: Ketchum, B. (Eds.). Ecosystems of the World, Estuaries and Enclosed Seas. Elsevier Scientific Pub House, 427-449.

Álvarez-Borrego, S. & Lara-Lara, J. 1991. The physical environment and primary productivity of the Gulf of California. p 555–567. En: Simoneit, B. & Dauphin, J. (Eds.). The Gulf and peninsular province of the Californias. American Association of Petroleum Geologists Memoirs, No. 47.

Armstrong, R. 1976. The effects of predator functional response and prey productivity on predator-prey stability: a graphical approach. *Ecology,* 57(3): 609-612.

Avalos-García C; Sánchez-Velasco L; & Shirasago B. 2003. Larval fish assemblages in the Gulf of California and their relation to hydrographic variability (autumn 1997-summer 1998). Bulletin of marine science 72 (1): 63-76.

Branch, T; Stafford, K.; Palacios, D.; Allison, C.; Bannister, J.; *et al*. 2007. Past and present distribution, densities and movements of blue whales *Balaenoptera musculus* in the Southern hemisphere and northern Indian Ocean. Mammal Review, 37(2):116–175.

Ballance, L.; Pitman, R. & Fiedler, P. 2006. Oceanographic influences on seabirds and cetaceans of the eastern tropical Pacific: A review. Progress in Oceanography, 69:360-390.

Began, M; Harper, J. & Townsend, C. 1996. Ecology. Individual populations and communities. 3rd edition. Blackwell scientific Publications. New York. USA.

Ben-David, M.; Flynn, & R. Schell, D. 1997. Annual and seasonal changes in diets of martens: evidence from a stable isotope analysis. Oecología, 111: 280-291.

Bernal, G.; Ripa, P. & Herguera, J. 2001. Variabilidad oceanográfica y climática en el Bajo Golfo de California: Influencias del Trópico y Pacífico Norte. Ciencias Marinas 27 (4): 595-617

Bérubé, M & Aguilar, A. 1998. A new hybrid between a blue whale, *Balaenoptera musculus,* and a fin whale, *B. physalus*: frequency and implications of hybridization. Marine Mammal Science, 14(1):82-92.

Bérubé, M.; Aguilar, A.; Dedanto, D.; Larsern, F.; Notarbartolo-Di-Sciara, G.; Sears, R.; Sigurjonsson, J.; Urban, J. & Palsbøll, P. 1998. Population genetic structure of North Atlántic, Mediterranean and Sea of Cortez fin whale, *Balaenoptera physalus* (Linnaeus,1758): Analysis of mitochondrial and nuclear loci. Molecular Ecology, 7: 585-600.

Bérubé, M.; Urban, J.; Dizon, A.; Brownell, R. & Palsbøll, P. 2002. Genetic identification of a small and highly isoaled population of fin whale (*Balaenoptera physalus*) in the Sea of Cortez, Mexico. Conservation Genetics, 3:183-190.

Bissett, A., J. A. E. Gibson, S. N. Jarman, K. M. Swadling, and L. Cromer (2005), Isolation, amplification and identification of ancient copepod DNA from lake sediments. Limnology Oceanography: Methods, 3:533-542.

Blankenship, L. & Yayanos, A. 2005. Universal primers and PCR of gut contents to study marine invertebrate diets. Molecular Ecology, 14: 891-899

Bossart, G. 2006. Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. Oceanography 19:44-47.

Brinton, E. & Townsend, A. 1980. Euphausiids in the Gulf of California, the 1957 cruises. California cooperative Oceanic Fisheries Investigations Reports, 21: 211-236.

Brinton, E., Fleminger, A. & Siegel-Causey, D. 1986. The temperate and tropical planktonic biotas of the Gulf of California. *CalCOFI Rep.* 27: 228-266

Brodie, P.; Sameoto, D. & Sheldon, R. 1978. Population densities of euphausiids off Nova Scotia as indicated by net samples, whale stomach contents, and sonar. Limnology and Oceanography 23:1264–1267.

Brown, J. 2000. Foraging ecology of animals in response to heterogeneous environments. pp 181 - 213. En: The Ecological Consequences of Environmental Heterogeneity. Hutchings J.; John E.; Stewart A. (Eds). Blackwell Science: Oxford 434p

Busquets-Vass, G. 2008. Variabilidad de isótopos estables de nitrógeno y carbono en piel de ballena azul (*Balaenoptera musculus*). Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 84pp.

Calambokidis, J.; Barlow J.; Ford J.; Chandler, T. & Douglas, B. 2009. Insights into the population structure of blue whales in the eastern North Pacific from recent sightings and photographic identification. Marine Mammal Science, 25 (4): 816-832

Campos, D. 1998. Composición y abundancia de la ictiofauna capturada con red agallera en el área de Loreto, B.C.S. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 106 pp.

Casper, R.; Jarman, S.; Deagle, B.; Gales, N. &.Hindell, M. 2007a. Detecting prey from DNA in predator scats: a comparison with morphological analysis, using Arctocephalus seals fed a known diet. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 347:144–154.

Casper, R.; Jarman, S.; Gales, N.; & Hindell, M. 2007b. Combining DNA and morphological analyses of faecal samples improves insight into trophic interactions: a case study using a generalist predator. Marine Biology, 152: 815–825.

Chávez-Andrade, M. 2006. Caracterización del hábitat de los grandes cetáceos del Golfo de California durante la temporada fría de 2005. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 64pp.

Collin M.; Xavier J.; Johnston M North A.; Enderlein P.; Tarling, G.; Waluda, C.; Hawker, & Cunningham, N. 2008. Patterns in the distribution of myctophid fish in the northern Scotia Sea ecosystem. Polar Biology, 31:837–851.

Conradt, L. 1998. Measuring the degree of sexual segregation in group living animals. Journal Animal Ecology, 67:217-226.

Conradt, L.; Clutton-Brock, T. & Thompson, D. 1999. Habitat segregation in ungulates: are males forced into suboptimal foraging habitats through indirect competition by females?. Oecologia, 119: 367-377.

Corkeron, P. 1991. Distribución y Ecología. En: Ballenas, delfines y marsopas. Harrison, R. & Bryden, M. (eds.). Encuentro Editorial S.A. Fundación Caixa de Pensions, Museu de la Ciència. Barcelona. p. 85-98.

De la Cruz-Agüero, J. 1992. Composición, distribución y estructura de la ictiofauna mesopelágica de aguas adyacentes a la costa occidental de Baja California Sur. Tesis Maestría CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 99p

De Silva-Dávila, R. & Palomares-García, R. 2002. Distributional patterns of the euphausiid community structure in bahía de La Paz, B.C.S., México. pp. 109-125 En: Hendrickx, M. (Ed.). Contributions to the study of East Pacific crustaceans. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM., 383 pp.

Deagle, B. & Tollit, D. 2007. Quantitative analysis of prey DNA in pinniped faeces: potential to estimate diet composition? Conservation Genetics, 8:743–747.

Deagle, B.; Tollit, D.; Jarman, S.; Hindell, M.; Trites, A. & Gales, N. 2005. Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey DNA in scats from captive Steller sea lions. Molecular Ecology, 14:1831-1842

Del Ángel-Rodríguez, J. 1997. Hábitos alimentarios y distribución espaciotemporal de los rorcuales, común (*Balaenoptera physalus*) y azul (*Balaenoptera musculus*) en la Bahía de la Paz, B.C.S., México. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 78pp.

Doniol-Valcroze T., Berteaux D., Larouche P. & Sears R. 2007 Influence of thermal fronts on habitat selection by four rorqual whale species in the Gulf of St Lawrence. Marine Ecology Progress Series, 335:205–216.

Doucette, G. J., Cembella, A. D., Martin, J. L., Michaud, J., Cole T. & Rolland, R. M. 2006. PSP toxins in North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*) and their zooplankton prey in the Bay of Fundy, Canada. Marine Ecology Progress Series 306:303–313.

Etnoyer, P.; Canny, D.; Mate, B. & Morgan, L. 2004. Persistent pelagic habitats in the Baja California to Bering Sea (B2B) ecoregion. Oceanography, 17(1): 90-110.

Etnoyer, P; Canny, D.; Mate, B.; Morgan, L.; Ortega-Ortiz, J. & Nichols, W. 2006. Sea-surface temperature gradients across blue whale and sea turtle foraging trajectories off the Baja California Peninsula, Mexico. Deep-Sea Research, 2(53): 340–358.

Ferguson, M. 2005. Cetacean population density in the Eastern Pacific Ocean: analyzing patterns with predictive spatial models. Ph.D. Thesis. University of California, San Diego. 203 pp.

Fiedler, P. Reilly, S. Hewitt, R. Demer, D. Philbrick, V. Smith, S, Armstrong, W. Croll, D. Thershy, B. & Mate, B. 1998. Blue whale habitat and prey in the California Channel Islands. Deep-Sea Research II, 45: 1781-1801.

Flinn, R.; Trites, A. & Gregr, E. 2002. Diets of fin, sei, and sperm whales in British Columbia: an analysis of commercial whaling records, 1963-1967. Marine Mammal Science, 18(3):663-679

Frantzen, M.; Silk, J.; Ferguson, J. Wayne, R. & Kohn, M. 1998. Empirical evaluation of preservation methods for faecal DNA. Molecular Ecology, 7:1423-1428.

Furuhashi M. & Shimazaki K. 1989. Vertical distribution and diet of Stenobrachius nannochir (Myctophidae) in the southern Bering Sea, summer, 1987. National Institute of Polar Research (NIPR) Symposium on Polar Biology (National Institute of Polar Research, Tokyo), 2:94–104.

Gallo-Reynoso, J. 1984. Interacción de calderones (*Globicephala macrorynchus*) con la ballena de aleta (*Balaenoptera physalus*) y con tursiones (*Tursiops truncatus gilli*), (Mammalia: Cetácea). Anales del Instituto de Biología. UNAM. Serie Zoológica 55 (1):331-333.

Gallo-Reynoso, J.; Bean, L.; Palomino, E.; Figueroa-Carranza, L. & Ortiz, L. 2005. Mysticetes on the Midriff area of the Gulf of California during the summers of 1995, 1996 and 1997. Cap. 18 205-214 En: Sánchez-Cordero V.; Medellín R. (Eds.). Contribuciones mastozoológicas en homenaje a Bernardo Villa. Instituto e Ecología; CONABIO. México. 706 pp

Gaskin, D. 1982. The ecology of whales and dolphins. Heinemann Educational Books, London. 459 pp.

Gendron, D. 1990. Relación entre la abundancia de eufáusidos y de ballenas azules (*Balaenoptera musculus*) en el Golfo de California. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 64pp.

Gendron, D. 1992. Population structure of daytime surface swarms of *Nyctiphanes simplex* (Crustacea: Euphausiacea) in the Gulf of California, Mexico. Marine Ecology Progress Series, 87:1-6.

Gendron, D. 1993. Índice de avistamientos y distribución del género Balaenoptera en el Golfo de California, México, durante febrero, marzo, abril de 1998. Revista de Investigación Científica. UABCS. No. Especial. SOMMEMA. 1:21-30.

Gendron, D., Aguíñiga, S. & Carriquiry, J.D. 2001. δ^{15}N and δ^{13}C in skin biopsy samples: a note on their applicability for examining the relative trophic level in three rorqual species. The Journal of Cetacean Research and Management, 3(1):41-44.

Gendron, D. 2002. Population ecology of blue whales of Baja California. Tesis de doctorado. CICESE, Ensenada B.C., México. 100pp.

Gillett , R. M., B. N. White & R. M. Rolland. 2008. Quantification and genetic profiling of DNA isolated from free-floating feces of the North Atlantic right whale (*Eubalaena glacialis*). Marine Mammal Science, 24:341–355.

Gómez-Gutiérrez, J.; Robinson, C.; Kawaguchi, S. & Nicol, S. 2010. Parasite diversity of *Nyctiphanes simplex* and *Nematoscelis difficilis* (Crustacea: Euphausiacea) along the northwestern coast of Mexico. Diseases of Aquatic Organisms, 88: 249–266

González-Solís, J.; Croxall, J. & Afanasyev, V. 2008. Offshore spatial segregation in giant petrels Macronectes spp.: differences between species, sexes and seasons. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 17: 22–36

Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41:95–98.

Hilty, J. & Merenlender, H. 2000. Faunal indicator taxa selection for monitoring ecosystem health. Biological Conservation 92:185–197.

Hobson, K. A. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stables isotopes: a review. Oecologia. 120:314-326.

Hoelzel, A. 1998. Genetic Structure of Cetacean Populations in Sympatry, Parapatry, and Mixed Assemblages: Implications for Conservation Policy. The American Genetic Association, 89:451–458

Höss, M.; Kohn, M.; Knauer, F. Schröeder, W. & Pääbo, S. 1992. Excremental analysis by PCR. Nature, 359: 199.

Howard, D. & Harrison, R. 1984. Habitat segregation in ground crickets: the role of interspecific competition and habitat selection. Ecology, 65:69–76.

Hughes-Hanks, J. M., Rickard, L. Panuska, C., Saucier, J. R. O'hara, T. M. Dehn L. &. Rolland R. M. 2005. Prevalence of *Cryptosporidium spp*. and *Giardia spp*. in five marine mammal species. Journal of Parasitology, 91:1225–1228.

IUCN, 2010. 2010 IUCN Red List of Threatened Species. En: http://www.iucnredlist.org.

Iverson, S.J., 1993. Milk secretion in marine mammals in relation to foraging: can milk fatty acids predict diet?. Symposia of the Zoological Society of London, 66, 263–291.

Jarman, 2001. The evolutionary history of krill inferred from nucelar large subunit rDNA sequence analysis. Biological Journal of the Linnean Society. 73: 199-212.

Jarman, S.; Nicol, S.; Elliott, N. & Mcminn, A. 2000. 28S RDNA evolution in the eumalacostraca and the phylogenetic position of krill. Molecular Phylogenetics and Evolution. 17(1):26-36.

Jarman, S.; Gales, N.; Tierney, M.; Gill, P. & Elliott, N. 2002. A DNA-based method for identification of krill species and its application to analysing the diet of marine vertebrate predators. Molecular Ecology, 11:2679-2690

Jarman, S.; Deagle, B. & Gales, J. 2004. Group-specific polymerase chain reaction for DNA-based analysis of species diversity and identity in dietary samples. Molecular Ecology, 13:1313–1322

Jaume-Schikel, M. 2004. Hábitos alimentarios del rorcual común *Balaenoptera physalus* en el Golfo de California mediante el uso de isótopos estables de nitrógeno y carbono. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 64pp.

Jiménez-Pérez, L. & Lara-Lara, J. 1988. Zooplankton biomass and copepod community structure in the Gulf of California during the 1982–1983 El Niño event. California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Report, 29:122–128.

Kauffman, S. 1993. The origins of order. Self-organization and selection in evolution. Oxford University Press, New York Oxford. 740 pp.

Kawamura, A. 1980. A review of food of balaenopterid whales. Science Report. Whales Res, 32:155-197.

Kieckhefer, T. 1992. Feeding ecology of humpback whales in continental shelf waters near Cordel1 Bank, California. Tesis de Maestría. MLML, San Jose State, Los Angeles, C.A., USA. 86 pp.

Kosenok, N. Chuchukalo, V. & Savinykh, V. 2006. The Characteristics of Feeding of Diaphus theta (Myctophidae) in the Northwestern Part of the Pacific Ocean in the Summer–Autumn Period. Journal of Ichthyology, 46(8):606–612.

Kumar, S. Dudley, J. Nei, M. & Tamura, K. 2008. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. Briefings in Bioinformatics, 9: 299-306.

Lavaniegos-Espejo. 1995. Production of the euphausiid *Nyctiphanes simplex* in Bahia Vizcaíno western Baja California. Journal of Crustacean Biology,15:444-453.

Lavín, M. & Marinone, S. 2003. An overview of the physical oceanography of the Gulf of California, 173-204p. En: Velasco-Fuentes, O.U. *et al*. (Eds.) Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. 376p.

Li C & Ortí G. 2007. Molecular phylogeny of Clupeiformes (Actinopterygii) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 44:386–398.

Lluch-Cota, S. 2000. Coastal upwelling in the eastern Gulf of California. Acta Oceanologica, 23:731-740.

López-Espinosa, R. 1996. Propuesta de ordenamiento de las actividades de la zona marina de Loreto, BCS., México. Tesina en administración de Recursos Marinos. UABC, Ensenada B.C., México. 56pp

Lowry, M.S.; Oliver, C.W.; Macky. C. & Wexler J.B. 1990. Food habits of California sea lions *Zalophus californianus* at San Clemente Island, California, 1981-86. Fishery Bulletin, 88:509-521.

Mackintosh, N., 1974. Size of krill eaten by whales in the Antartic. Discovery Report, 36:157-178.

MacLeod, C.; Bannon, S.; Pierce, G.; Schweder, C. Learmonth, J.; Herman, J. & Reid, R. 2005. Climate change and the cetacean community of north-west Scotland. Biological Conservation, 124: 477–483.

Markaida U. & Sosa-Nishizaki, O. 2003. Food and feeding habits of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Gulf of California, Mexico. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 83:507–522

Martínez-Gómez, S. 2009. Producción de biomasa de *Nyctiphanes simplex* (crustacea: euphausiacea) en el Golfo de California, México. Tesis Maestría CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 95p

Martínez-Villalba, M. 2008. Distribución y abundancia de la ballena de aleta (*Balaenoptera physalus*) en aguas ayacentes a Guaymas y algunas enferencias ecológicas generales sobre esta especie en el Golfo de California. Tesis de maestría. UNAM, México D.F., México. 85pp

Masland, E.; Sweezy, M. & Ono, K. 2010. Molecular methods for differentiating grey seal (*Halichoerus grypus*) and harbour seal (*Phoca vitulina*) scat. Molecular Ecology Resources, 10: 214–217

Mauchline, A. 1967. Feeding appendages of the Euphausiacea (Crustacea). Journal of zoology, 153 (1): 1 – 43.

Mejía–Acosta, S. 2003. Dieta de la Ballena azul *Balaenoptera musculus* (Cetacea: Balaenopteridae) en aguas adyacentes a la península de Baja California, con base en el análisis del contenido fecal. Tesis de licenciatura. UABC, Ensenada B.C., México. 57pp.

Moreno, I.; Zerbini, A.; Danilewicz, D.; De Oliveira, M.; Simões-Lopes, P.; Lailson-Brito, J. & Acevedo, A. 2005. Distribution and habitat characteristics of dolphins of the genus *Stenella* (Cetacea: Delphinidae) in the southwest Atlantic Ocean. Brazil. Marine Ecology Progress Series, 300:229–240.

Murphy, E.; Watkins, J.; Trathan, P.; Reid, K.; Meredith, M.P.; Thorpe, S.; Johnston, N.M.; Clarke, A.; Tarling, G.A.; Collins, M.A.; Forcada, J.; Shreeve, R.S.; Atkinson, A.; Korb, R.; Whitehouse, M.J.; Ward, P.; Rodhouse, P.G.; Enderlein, P.L.; Hirst, A.G.; Martin, A.R.; Hill, S.L.; Staniland, I.J.; Pond, D.W.; Briggs, D.R.; Cunningham, N.J. & Fleming, A.H. 2007. Spatial and temporal operation of the Scotia Sea ecosystem: a review of large-scale links in a krill centred food web. Philosophical Transactions of the Royal Society, B362: 113–148.

Nemoto, T. 1957. Foods of baleen whales in the North Pacific. The Scientific Reports of the Whales Research Institute Tokyo, 12:33-89.

Nemoto, T. 1959. Foods of baleen whales in reference to whale movements. The Scientific Reports of the Whales Research Institute Tokyo, 14:149-290.

Nicol, S. 1984. Population structure of daytime surface swarms of the euphausiid *Meganyctiphanes norvegica* in the Bay of Fundy. Marine Ecology Progress Series, 18: 241-251

Nicol, S.; Pauly, T.; Bindoff, N.; Wright, S.; Thiele, D.; Hosle, G.; Strutton, P. & Woehler, E. 2000. Ocean circulation off east Antarctica affects ecosystem structure and sea ice extent. Nature, 406:504–507

Notarbartolo di Sciara, G.; Zanardelli, M.; Panigada, S.; Jahoda, M. & Airoldi, S. 2003. Fin whale, *Balaenoptera physalus* (L., 1758), in the Mediterranean Sea. Mammal Review, 33: 105–150.

Obeso-Nieblas M.; Gaviño-Rodríguez, J.; Shirasago-Germán, B.; Alatorre-Mendieta, M. & Sánchez-Velasco, L. 2001. Análisis de la estructura hidrográfica en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. Unión Geofísica Mexicana, A.C. Reunión Anual.

Owen-Smith, R. 1992. Megaherbivores, the influence of very large body size on ecology. Ed. Cambridge studies in ecology. England. 369pp.

Owen-Smith, N. 2008. Effects of temporal variability in resources on foraging behaviour, pp. 159-181. En: Prins, H. & Van Langevelde, F. (eds.). Resource Ecology: Spatial and Temporal Dynamics of Foraging. Springer, 303pp.

Palacios, D. 1999. Blue whale (*Balaenoptera musculus*) occurrence off the Galápagos Island, 1978-1995. Journal of Cetacean Research Management, 1 (1): 41-51.

Pardo, M. 2009. Condiciones fisicoquímicas y biológicas que modulan la abundancia de cetáceos sobre Cuenca Alfonso, Golfo de California. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 122 p.

Parson, K.; Durban, J. & Claridge, D. 2003. Comparing two alternative methods for sampling small cetaceans for molecular analysis. Marine Mammals Science, 19 (1): 224-231.

Piatt J.; Methven D.; Burger A.; McLagan R.; Mercer V. & Creelman E. 1989. Baleen whales and their prey in a coastal environment. Canadian Journal of Zoology, 67:1523–1530.

Praca, E. & Gannier, A. 2008. Ecological niches of three teuthophageous odontocetes in the northwestern Mediterranean Sea. Ocean Science, 4: 49–59.

Raymont, J. 1983. Plankton and Productivity in the Oceans, Zooplankton. Pergamon Press, New York, vol. 2, 824 pp.

Robison, BH. 1972. Distribution of midwater fishes of the Gulf of California. Copeia, 3:448–461

Rocha-Gosselin, A. 2009. Caracterización de la carga microbiana y parasitaria de tres especies de misticetos en las costas de la península de Baja California, México. Tesis Maestría CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 113P

Roden, G. 1964. Oceanographic aspects of the Gulf of California. p 30-58. En: Van Andel, T. & Shore, G. (Eds.). Marine Geology of the Gulf of California. American Association of Petroleum Geologists Memoirs, No. 3.

Rojas-Bracho, L. 1984. Presencia y áreas de distribución del rorcual común, *Balaenoptera physalus* en el Golfo de California, México. Tesis de Licenciatura, UNAM, México, D.F., México. 157p.

Rolland, R. M., Hunt, K. E., Kraus, S. D., & Wasser S. K. 2005. Assessing reproductive status of right whales (*Eubalaena glacialis*) using fecal hormone metabolites. General and Comparative Endocrinology 142:308–317.

Santamaría Del Ángel, E.; Álvarez-Borrego, S. & Müller-Karger, F. 1994. Biogeographic regions based on coastal zone color scannery imagery Gulf of California. Journal of Biogeographic Research. 99 (c4): 7411-7421

Saunders, R. 2007.Ecological investigations of euphausiids at high latitudes. Tesis de doctorado. University of St. Andrews, Birmingham, UK. 166p

Shane, S.H. 1995. Relationship between pilot whales and Risso's dolphins at Santa Catalina Island, California, USA. Marine Ecology Progress Series, 123: 5-11.

Smith, S. & Whitehead, H. 2000. The diet of Galápagos sperm whales *Physeter macrocephalus* as indicated by fecal sample analysis. Marine Mammals Science,16:315-325.

Stein, A. & Georgiadis, N. 2008. Spatial statistic to Quantify Patterns of herd dispersion in a savanna herbivore community. pp. 33-51. En: Prins, H. & Van

Langevelde, F. (eds.). Resource Ecology: Spatial and Temporal Dynamics of Foraging. Springer, 303pp.

Stensland, E.; Angerbjörn, A. & Berggren, P. 2003. Mixed species groups in mammals. Mammal Review, 33(3): 205–223.

Taberlet, P.; Waits, L. & Luikhart, Y. 1999. Noninvasive genetic sampling : look before you leap. Trends in Ecological Evolution, 14: 323-327.

Tarling, G. 2003. Sex-dependent diel vertical migration in northern krill *Meganyctiphanes norvegica* and its consequences for population dynamics. Marine Ecology Progress Series, 260: 173-188.

Tershy, B. Breese, D. & Strong, C. 1990. Abundance, Seasonal Distribution and Population Composotion of Balaenopterid Whales in the Canal de Ballenas, Gulf of California, México. En: Hammond. P.S. (Eds). Individual recognition and the estimation of cetacean population parameters. Report of the Int. Whaling Commission, Special Issue. 12:369-375.

Tershy, B. 1992. Body Size, Diet, Habitat Use, and Social Behavior of Balaenoptera Whales in the Gulf of California. Journal of Mammalogy, 73(3): 477-486

Tershy, B.; Urbán, J.; Breese, D. Rojas-Bracho, L. & Findley, L. 1993. Are fin whales resident to the Gulf of California? Revista de Investigaciones Científicas. No. Esp. SOMEMMA. 1: 69-72.

Tremblay, N. 2008. Respuesta antioxidante asociada al límite de migración vertical diaria de los eufáusidos subtropicales del Golfo de California. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 147p.

Uchikawa, K.; Yamamura, O. Kitagawa, D. & Sakurai, Y. 2002. Diet of the mesopelagic fi sh Notoscopelus japonicus (Family: Myctophidae) associated with the continental slope off the Pacifi c coast of Honshu, Japan. Fisheries Science, 68:1034-1040.

Urbán, J.; Rojas-Bracho, L.; Guerrero-Ruíz, M.; Jaramillo-Legorreta, A. & Findley, L. 2005. Cetacean diversity and conservation in the Gulf of California. En: Biodiversity, Ecosystems, and Conservation in Northern Mexico. Carton, J.; Ceballos, G. & Felger, R. (Eds.). Oxford University Press, New York.

Van Langevelde, F. & Prins, H.2008. Introduction on resource ecology. pp. 1-6 En: Prins, H. & Van Langevelde, F. (eds.). Resource Ecology: Spatial and Temporal Dynamics of Foraging. Springer, 303pp.

Van Wieren, S. & Van Langevelde, F. 2008. Structuring herbivore communities, The role of habitat and diet. pp. 237-262. En: Prins, H. & Van Langevelde, F. (eds.). Resource Ecology: Spatial and Temporal Dynamics of Foraging. Springer, 303pp.

Vestheim, H.; Edvardsen E. & Kaartvedt, E. 2005. Assessing feeding of a carnivorous copepod using species-specific PCR. Marine Biology, 147: 381–385

Watkins, W.; Moore, K.; Sigurjonsson, J; Wartzok, D. &. Notarbartolo Di Sciara, G. 1984. Fin whale (*Balaenoptera physalus*) tracked by radio in the Irminger. Journal of the Marine Institute Reykjavik, 8: l-14.

Whitehead, H.; MacLeod, C.; & Rodhouse, P. 2003. Differences in niche breadth among some teuthivorous mesopelagic marine mammals. Marine Mammals Science, 19: 400–406.

Yamaguchi, M.; Miya, M.; Okiyama, M. & Nishida, M. 2000a. Molecular Phylogeny of the Lanternfishes (Pisces: Myctophidae) Inferred from Mitochondrial 16S rDNA. (taxa access AB042176.1 y AB042185.1). http://www.ncbi.nlm.nih.gov

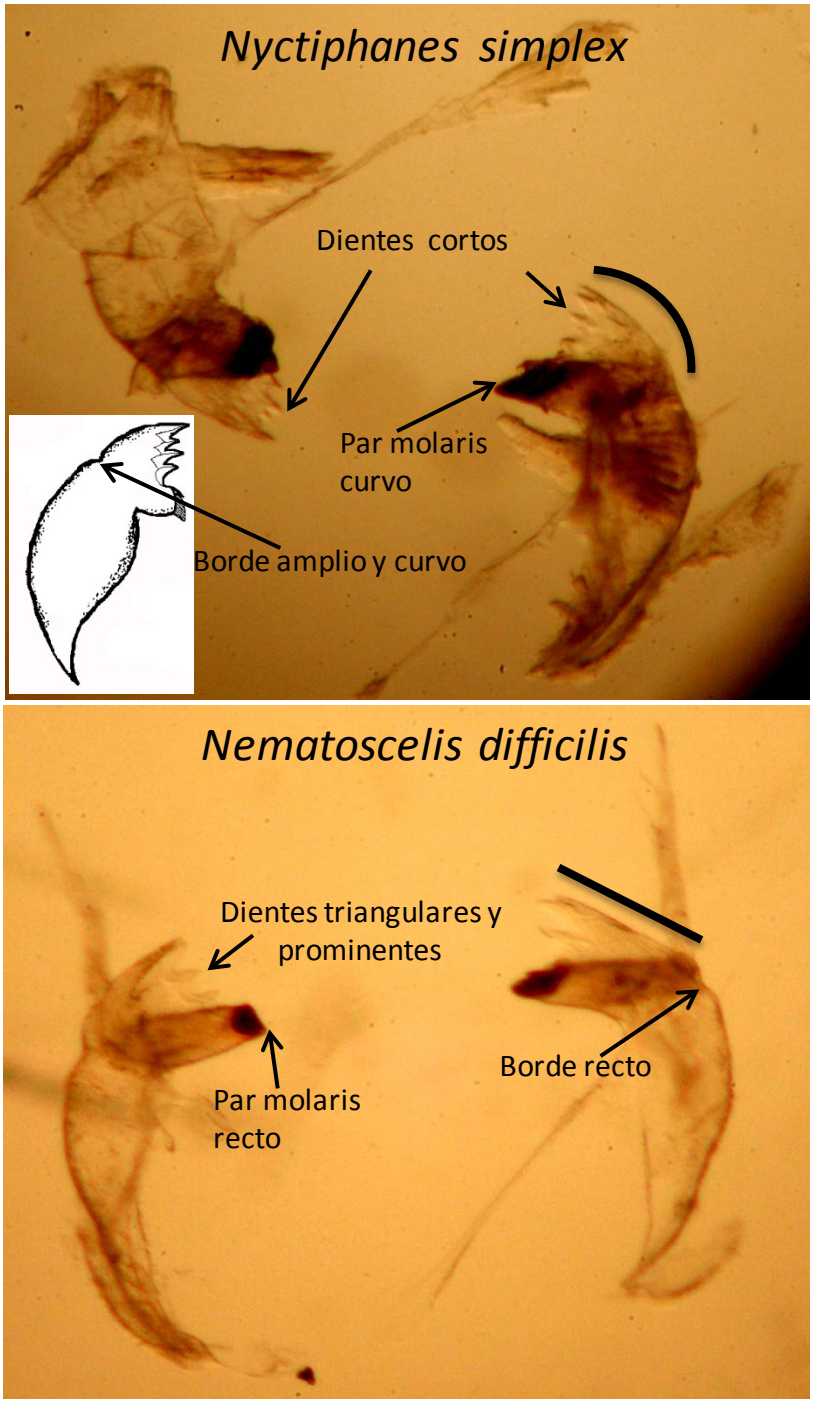
Yamaguchi, M.; Miya, M.; Okiyama, M.; & Nishida, M. 2000b. Molecular phylogeny and larval morphological diversity of the lanternfish genus Hygophum (Teleostei: Myctophidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 15 (1): 103-114.

Yochem, P. & Leatherwood, S. 1985. Blue whale *Balaenoptera musculus* (Linnaeus, 1758). En: Ridgway, S. & Harrison R (eds.). Handbook of marine mammals. Academic Press, vol 3 London, 193–240.

Yvon-Durocher, G.; Montoya, J.; Emmerson, M. & Woodward, G. 2008. Macroecological patterns and niche structure in a new marine food web. Central European Journal of Biology, 3(1): 91-103

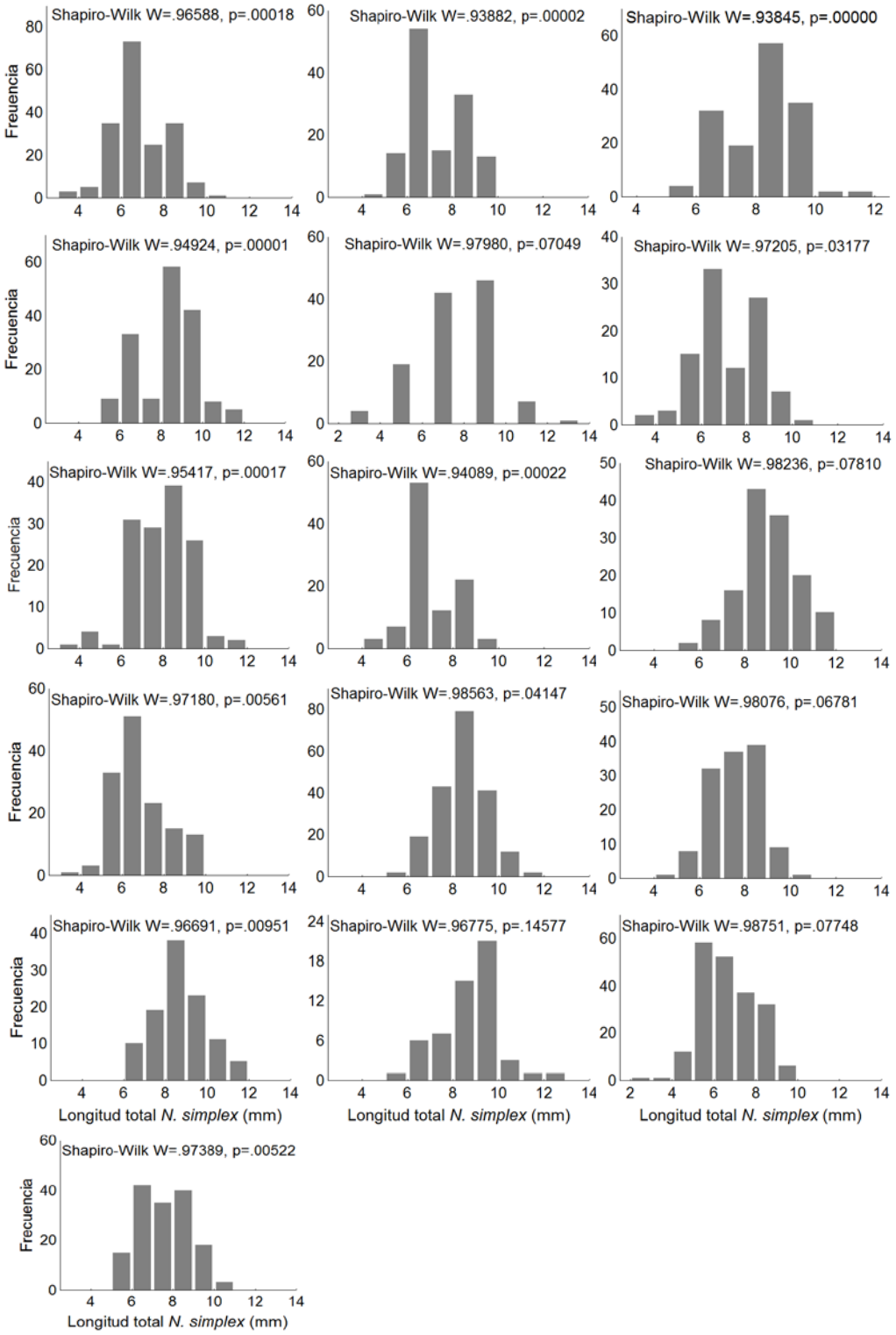
ANEXO 1

Diferencias entre las mandíbulas de *N. simplex* y *N. difficilis* basadas en las características reportadas por Mauchline (1967). Imágenes cedidas por M.C. Jorge Del Ángel.



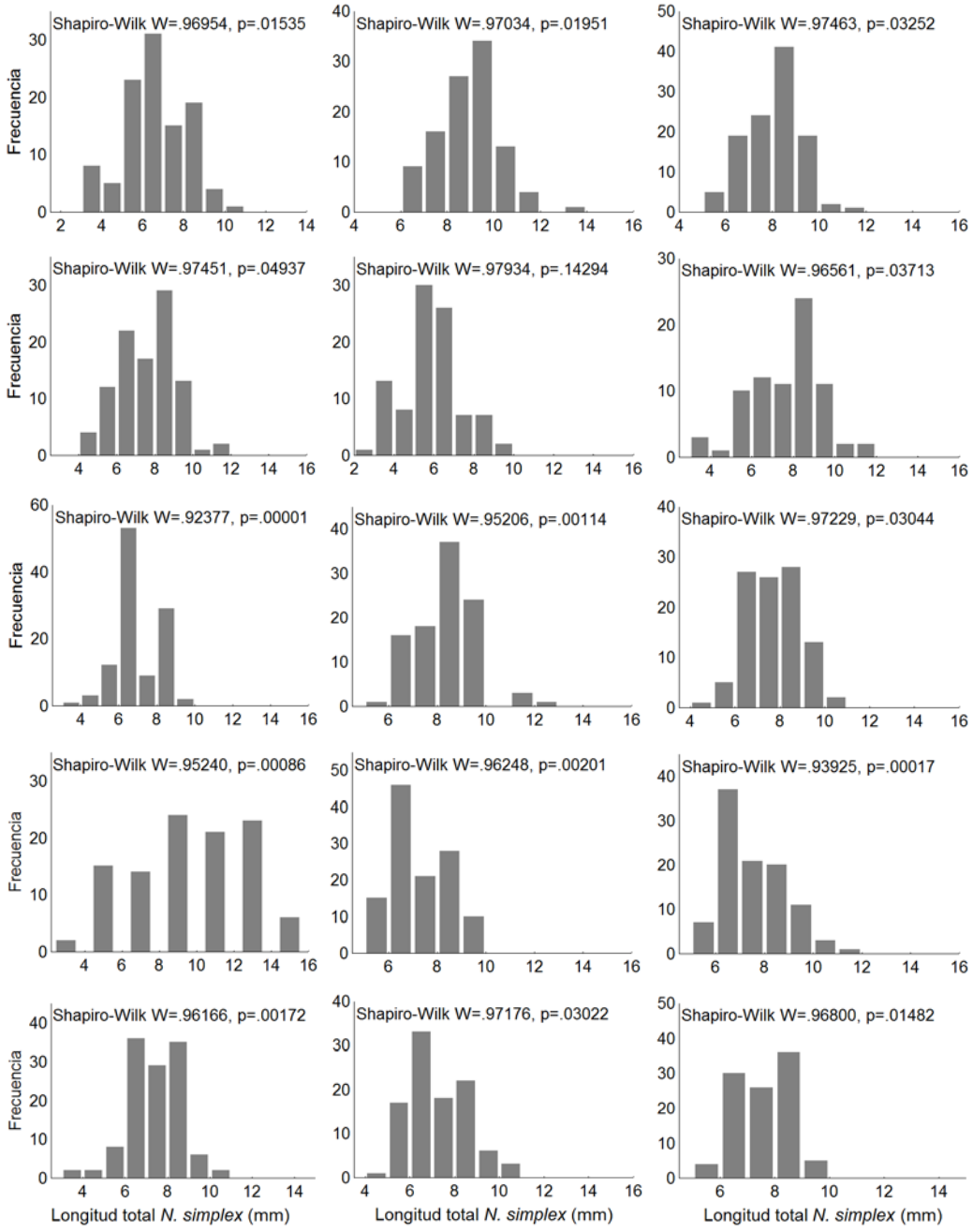
ANEXO 2

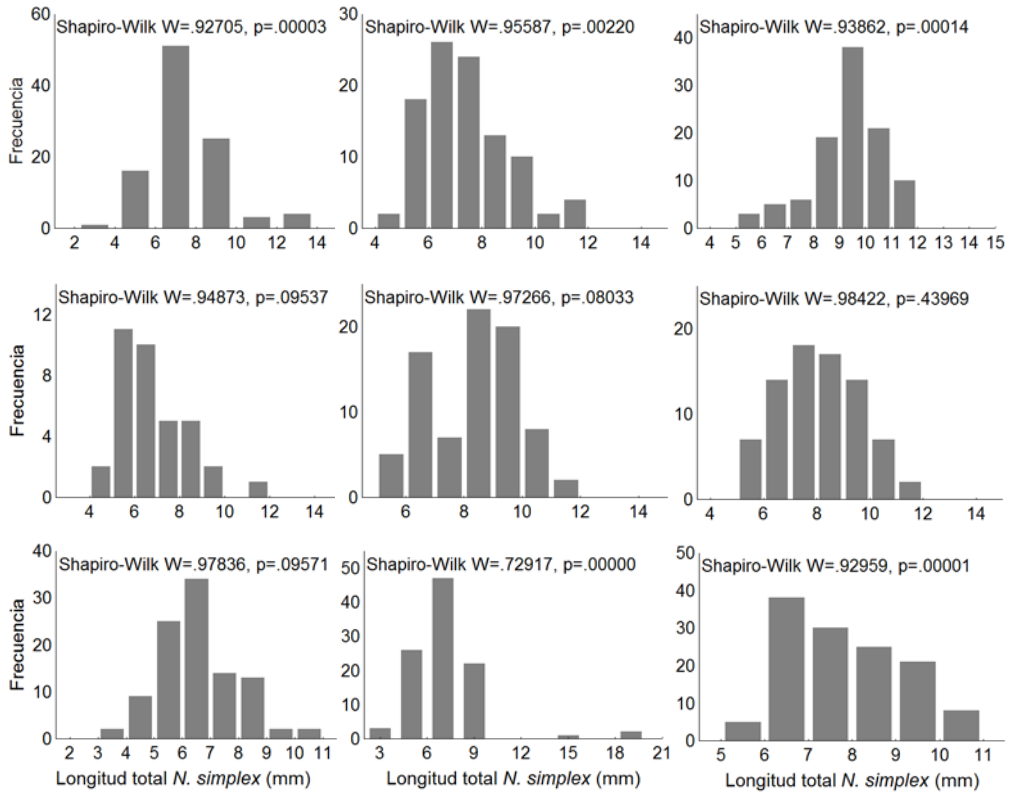
Histogramas de frecuencia de las 16 muestras fecales usadas en el análisis morfológico de estructuras duras en heces de *Balaenoptera physalus*



ANEXO 3

Histogramas de frecuencia de las 24 muestras fecales usadas en el análisis morfológico de estructuras duras en heces de *Balaenoptera musculus*




Shapiro-Wilk W=.92705, p=.00003
Shapiro-Wilk W=.95587, p=.00220
Shapiro-Wilk W=.93862, p=.00014
Shapiro-Wilk W=.94873, p=.09537
Shapiro-Wilk W=.97266, p=.08033
Shapiro-Wilk W=.98422, p=.43969
Shapiro-Wilk W=.97836, p=.09571
Shapiro-Wilk W=.72917, p=.00000
Shapiro-Wilk W=.92959, p=.00001
Frecuencia
Longitud total N. simplex (mm)