



**Instituto Politécnico Nacional  
Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas**

---



**“Ontogenia alimentaria del elefante marino del norte,  
*Mirounga angustirostris*: Análisis de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en  
colágeno dental”**

**TESIS**

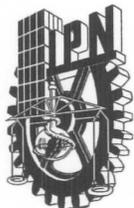
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON  
LA ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

**Presenta:**

**Biól. Marjorie Riofrío Lazo**

**La Paz, BCS, México**

**DICIEMBRE 2009**



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARÍA 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 10 del mes de Noviembre del 2009 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 de grado titulada:

"ONTOGENIA ALIMENTARIA DEL ELEFANTE MARINO DEL NORTE, *Mirounga angustirostris*: ANÁLISIS DE  $\delta^{15}N$  Y  $\delta^{13}C$  EN COLÁGENO DENTAL"

Presentada por el alumno:

RIOFRÍO  
Apellido paterno

LAZO  
materno

MARJORIE DEL CARMEN  
nombre(s)

Con registro: 

A	0	8	0	4	0	1
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

### LA COMISION REVISORA

Director de tesis  
PRIMER VOCAL

\_\_\_\_\_  
DR. DAVID AÚRIOLES GAMBOA

PRESIDENTE

\_\_\_\_\_  
DR. SERGIO AGUÍÑIGA GARCÍA

SECRETARIO

\_\_\_\_\_  
DR. VÍCTOR HUGO CRUZ ESCALONA

SEGUNDO VOCAL

\_\_\_\_\_  
DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGÜERO

TERCER VOCAL

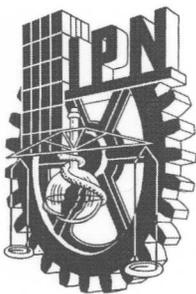
\_\_\_\_\_  
DR. SERGIO FRANCISCO MARTÍNEZ DÍAZ

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

\_\_\_\_\_  
DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE



IPN  
CICIMAR  
DIRECCION



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 17 del mes Noviembre del año 2009, el (la) que suscribe BIOL. MARJORIE DEL CARMEN RIOFRIO LAZO alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro A080401 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:  
DR. DAVID AUIROLES GAMBOA y cede los derechos del trabajo titulado:  
"ONTOGENIA ALIMENTARIA DEL ELEFANTE MARINO DEL NORTE  
*Mirounga angustirostris*: ANÁLISIS DE  $\delta^{15}\text{N}$  Y  $\delta^{13}\text{C}$  EN COLÁGENO DENTAL"  
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: marjorieriofrio@gmail.com dgamboa@ipn.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BIOL. MARJORIE DEL CARMEN RIOFRIO LAZO

*nombre y firma*

*Quien como tú,  
Que con solo una mirada  
logras que realice tu voluntad inmediata,  
Que provocas una sonrisa en los momentos más oportunos  
y permites que sea mejor cada día,  
A la luz de mi vida y fuente de alegría,  
Mi amada hija,  
...Camila*

## AGRADECIMIENTOS

Mi principal agradecimiento a Dios, por hacer posible que todo esto ocurra, por las bendiciones de cada día y por el proyecto de vida preparado para mí.

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, CICIMAR, por ser la institución donde desarrollé mi potencial académico y ser un pilar más en mi formación profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyt) por la beca de Maestría y al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo otorgado a través del Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI); financiamientos que ayudaron al desarrollo de mis estudios e investigación.

Al Dr. David Auriolés, por la oportunidad de ser su alumna, sus enseñanzas, asesoramiento, interés y ayuda durante todo el proceso de realización de esta tesis, y por la valiosa lección de experimentar un ambiente de trabajo, investigación y compañerismo. Mi sincero agradecimiento.

Gracias también a aquellas personas que revisaron cuidadosamente este trabajo, mis sinodales: Dr. Sergio Martínez Díaz, Dr. Sergio Aguíñiga García, Dr. José De la Cruz Agüero, por su amable disposición, oportunos comentarios y sugerencias; y en especial al Dr. Víctor Cruz Escalona, por su constante ayuda y amistad y por ver siempre más allá de mis habilidades.

Al Dr. Fernando Elorriaga, por su generosa disposición para enseñarme, por las valiosas charlas que mantuvimos durante todo este tiempo y por compartir sus conocimientos conmigo (además de sus bonitas fotos). Muchas gracias Fer, espero algún día compartir créditos contigo...

Gracias a la amistad brindada, las experiencias compartidas, sugerencias y contribuciones que para este trabajo hicieron: Diego, Fernando, Nereyda, Trini, Judith, Alma, Haniel, Tatiana, Sandra, Maricela y Ligia, todos compañeros del Laboratorio de Ecología de Pinnípedos a lo largo de la maestría; y a Haniel además,

por su colaboración e ingenio, que ayudaron más de una vez a engalanar el diseño de este trabajo.

A mis amados padres, Teresita y Carlos Julio, quienes son responsables de la persona que soy, a quienes debo mucho más de lo que puedo recordar y de los que siempre estaré eternamente agradecida. De igual manera a mi querida Tía Berthi y a mis hermanos, de los que siempre recibo palabras de aliento, apoyo y cariño. Los extraño mucho !!!.

En especial, quiero agradecer a la persona a quien amo y de quien aprendo constantemente, que siempre me ha apoyado (a su manera), es un gran compañero de vida y amigo, y un excelente padre.

Diego muchas gracias por creer en mí, mucho más que yo misma, por estar conmigo en aquellos momentos en que el estudio y mi rol de madre ocuparon todo mi tiempo y esfuerzo, y por ser parte importante en el logro de esta meta profesional.

## CONTENIDO

Lista de tablas.....	v
Lista de figuras.....	vi
Glosario.....	x
Resumen.....	xv
Abstract.....	xvi
1. Introducción.....	1
Características de los dientes.....	5
Tipos de dentición.....	6
Características del tejido óseo.....	7
2. Antecedentes.....	9
3. Justificación.....	11
4. Hipótesis.....	11
5. Objetivos.....	12
5.1 Objetivo general.....	12
5.2 Objetivos específicos.....	12
6. Área de estudio .....	13
Isla Año Nuevo.....	14
Islas San Benito.....	14
Isla Magdalena.....	15

7. Metodología.....	16
7.1 Asignación del tamaño de muestra .....	16
7.2 Determinación del sexo.....	17
7.3 Determinación de la edad.....	18
7.4 Análisis de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ .....	19
7.4.1 Obtención de muestras.....	19
7.4.2 Preparación de muestras para análisis isotópico.....	19
7.5 Estimación del Nivel Trófico.....	21
7.6 Estimación de Amplitud Trófica.....	22
7.7 Análisis de datos.....	22
8. Resultados.....	24
8.1 Tamaño de muestra específico.....	24
8.2 Determinación de Sexo y Edad.....	24
8.3 Análisis de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en colágeno dental.....	26
8.3.1 Perfil ontogénico.....	26
Fraccionamiento isotópico.....	30
8.3.2 Diferencias isotópicas entre sitios de estudio.....	31
8.3.3 Variaciones isotópicas entre categorías de edad.....	32
8.3.4 Variaciones isotópicas entre sexos.....	36
8.3.5 Variaciones isotópicas intra-sexuales.....	36
8.3.6 Variaciones isotópicas intra-anales.....	38

8.3.6.1	Perfil ontogénico semestral.....	38
8.3.6.2	Análisis comparativo de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre periodos.....	42
	San Benito – Magdalena.....	43
	Año Nuevo.....	43
8.3.7	Nivel Trófico.....	45
8.3.8	Amplitud trófica.....	45
8.4	Análisis de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en colágeno óseo.....	46
8.4.1	Variaciones isotópicas entre categorías de edad y entre sexos	47
8.5	Comparación isotópica entre tejidos.....	49
9.	Discusión.....	51
9.1	Patrones isotópicos de Historia Trófica.....	51
	Variación isotópica inter-anual.....	53
	Fraccionamiento isotópico.....	55
9.2	Variación en $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el colágeno dental de <i>Mirounga angustirostris</i> entre clases de edad y sexo.....	58
	Variación isotópica intra-sexual.....	66
9.3	Variación isotópica intra-anual: Detección de periodos de menor o mayor intensidad de alimentación.....	69
9.4	Nivel Trófico.....	73
9.5	Amplitud Trófica.....	74
9.6	Análisis isotópico en colágeno óseo.....	78

9.6.1	Variaciones en $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el colágeno óseo de <i>Mirounga angustirostris</i> entre clases de edad.....	81
9.6.2	Comparación isotópica entre tejido óseo y dentina.....	84
	Tasa de recambio isotópico del tejido óseo.....	85
10.	Conclusiones.....	86
11.	Literatura citada .....	88

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Número específico de muestras contemplado para cada objetivo del estudio.....	24
<b>Tabla 2.</b> Número de dientes de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en los sitios de estudio.....	25
<b>Tabla 3.</b> Número de cráneos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en los sitios de estudio.....	25
<b>Tabla 4.</b> Edad estimada de individuos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en las Islas San Benito, Magdalena y Año Nuevo durante el periodo 1981-2008.....	26
<b>Tabla 5.</b> Coeficiente de variación (CV) de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ calculado en los perfiles isotópicos de cuatro ♀♀ y seis ♂♂ de <i>M. angustirostris</i> descritos en este estudio.....	28
<b>Tabla 6.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ del colágeno dental de 35 caninos de <i>Mirounga angustirostris</i> de Islas San Benito y Magdalena. Se presenta el número total de muestras isotópicas por clase de edad y el número total de fases de edad monitoreadas.....	33
<b>Tabla 7.</b> Diferencias en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de individuos de distintas categorías de edad, (prueba de Tukey). Grupos de edad diferentes ( $P < 0.05$ ) marcados con rojo.....	34
<b>Tabla 8.</b> Diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de individuos de distintas categorías de edad, (prueba de Tukey). Grupos de edad diferentes ( $P < 0.05$ ) marcados con rojo.....	34
<b>Tabla 9.</b> Coeficiente de variación (CV) de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ calculado en los perfiles isotópicos intra-anales de seis ♂♂ de <i>Mirounga angustirostris</i> descritos en este estudio.....	41

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Rastreo satelital de 22 machos adultos (líneas rojas) y 17 hembras adultas (líneas amarillas) de *Mirounga angustirostris*, durante las migraciones de primavera (post-lactancia) y otoño (post-muda) desde Isla Año Nuevo (cuadro negro) durante 1995, 1996 y 1997 (tomado de Le Boeuf *et al.*, 2000)..... 2
- Figura 2.** Diente canino superior de un macho adulto de elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) seccionado longitudinalmente. Se pueden observar las capas de crecimiento anual (parte superior izquierda del diente) y la huella dejada por el micro-taladro al muestrear cada una de ellas (parte superior derecha)..... 6
- Figura 3.** Persistencia de los dientes deciduos en la mandíbula de una hembra juvenil de *Mirounga angustirostris*. Las flechas indican los dientes deciduos a la derecha de cada diente permanente (Tomado de Abbott y Verstraete, 2005)..... 7
- Figura 4.** Localidades donde se recolectaron dientes y cráneos de *Mirounga angustirostris* utilizados para caracterizar su ontogenia alimentaria..... 13
- Figura 5.** Perfiles de  $\delta^{15}\text{N}$  (círculos) y  $\delta^{13}\text{C}$  (cuadrados) en ‰ del colágeno dental de ♀♀ y ♂♂ de *Mirounga angustirostris* de +5 años recolectados en Islas San Benito, Magdalena y Año Nuevo. Primer valor corresponde al periodo de lactancia. Sexo y código se advierte en cada espécimen..... 27
- Figura 6.** Valores de fraccionamiento isotópico ( $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ ) entre la fase cría y la fase de hembra adulta de *Mirounga angustirostris*..... 30

<b>Figura 7.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ DS en ‰) del colágeno dental de machos adultos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Año Nuevo (AN), Magdalena (MG) y San Benito (SB). Los dos gráficos de arriba muestran los valores agrupados por sitio, mientras que en los dos siguientes, los valores están agrupados por clase de edad específica en cada sitio.....	32
<b>Figura 8.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ DS en ‰) del colágeno dental de 35 individuos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena, agrupados por clase de edad específica.....	34
<b>Figura 9.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ DS en ‰) del colágeno dental del macho adulto de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectado en Isla Año Nuevo, agrupados por clase de edad.....	35
<b>Figura 10.</b> Valores (promedio $\pm$ DS en ‰) de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ del colágeno dental de cinco ♂♂ y cuatro ♀♀ de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena.....	36
<b>Figura 11.</b> Valores individuales de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ 0.95 intervalo de confianza en ‰) del colágeno dental de cuatro ♀♀ y cinco ♂♂ de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena.....	37
<b>Figura 12.</b> Perfiles de valores de $\delta^{15}\text{N}$ (izquierda) y $\delta^{13}\text{C}$ (derecha) del colágeno dental de seis ♂♂ de <i>Mirounga angustirostris</i> de +5 años correspondientes al primer periodo (círculos) y segundo periodo (diamantes) del año. Valores reportados en ‰. Animales recolectados en Islas San Benito, Magdalena y Año Nuevo. Código de identificación se advierte en cada espécimen.....	39

<b>Figura 13.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ error estándar (caja) y desviación estándar (línea) en ‰) del colágeno dental de cinco ♂♂ de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena. En rojo se indican los valores correspondientes al primer periodo y en negro, al segundo periodo del año.....	43
<b>Figura 14.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ error estándar (caja) y desviación estándar (línea) en ‰) del colágeno dental de un ♂ de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectado en Isla Año Nuevo. En rojo se indican los valores correspondientes al primer periodo y en negro, al segundo periodo del año.....	44
<b>Figura 15.</b> Correlación entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del colágeno óseo de la mandíbula y maxila de 17 cráneos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena.....	47
<b>Figura 16.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ DS en ‰) del colágeno óseo de 22 individuos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena, agrupados por categorías de edad.....	48
<b>Figura 17.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ SD en ‰) del colágeno dental y óseo de 18 individuos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena.....	49
<b>Figura 18.</b> Correlación entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del colágeno óseo y dental de 18 individuos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena.....	50
<b>Figura 19.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ desviación estándar en ‰) del colágeno dental correspondientes a las distintas clases de edad y sexo de 35 individuos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena.....	60

<b>Figura 20.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ desviación estándar en ‰) del colágeno dental de seis machos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Año Nuevo.....	63
<b>Figura 21.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ desviación estándar en ‰) del colágeno dental de cinco machos y cuatro hembras de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena.....	65
<b>Figura 22.</b> Valores individuales de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ desviación estándar en ‰) del colágeno dental de cinco machos (en color amarillo) y cuatro hembras (en color azul) de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena.....	68
<b>Figura 23.</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ desviación estándar en ‰) del colágeno óseo de 18 individuos de <i>Mirounga angustirostris</i> recolectados en Islas San Benito y Magdalena. Agrupados por categoría de edad específica.....	82

## GLOSARIO

**Amplitud Trófica.-** Variedad de presas que conforman el espectro alimentario de un organismo.

**Balance de nitrógeno.-** También conocido como equilibrio nitrogenado. Es la relación entre el nitrógeno proteico ingerido y el excretado.

**Bentónico.-** Ambiente formado por el fondo marino y la capa de agua que está en íntimo contacto con él.

**Catabolismo.-** Conjunto de fenómenos metabólicos que tienen lugar en los seres vivos para transformar grandes moléculas en otras más pequeñas con liberación de energía; como por ejemplo la respiración.

**Colágeno.-** Proteína fibrosa insoluble, que se encuentra en forma muy extendida en el tejido conectivo, de la piel, los tendones y los huesos. Constituye el 30% del total de todas las proteínas corporales de los mamíferos.

**( $\delta$ ) Delta.-** Notación adoptada para expresar diferencias relativas entre la razón absoluta (R) de la muestra de interés y un estándar internacional. Expresada en partes por mil (‰).

**$\delta^{13}\text{C}.$** - Relación isotópica de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  expresada en partes por mil de una muestra con respecto a un estándar (Pee Dee Belemnite). Utilizado comúnmente en estudios de ecología trófica para definir el tipo de ambiente que utilizan los consumidores.

**$\delta^{15}\text{N}.$** - Relación isotópica de  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  expresada en partes por mil sobre de una muestra con respecto a un estándar (Nitrógeno atmosférico). Utilizado comúnmente en estudios de ecología trófica para definir la posición trófica de los consumidores.

**Desaminación oxidativa.-** Remoción de un grupo amino ( $-\text{NH}_2$ ) de un compuesto. Es importante en el metabolismo de los aminoácidos, especialmente en su degradación y subsecuente oxidación. El grupo amino es removido como amonio y luego excretado como urea o ácido úrico.

**Desmineralización.-** Disminución o pérdida de una cantidad anormal de elementos minerales, como potasio, calcio, etc., producido por la exposición ácida.

**Desnitrificación.-** Proceso microbiano mediante el cual se da la reducción de nitratos para la producción de Nitrógeno molecular ( $N_2$ ). El déficit de nitratos guarda una relación lineal positiva con los valores de  $\delta^{15}N$ .

**Diáfisis.-** Cuerpo o porción cilíndrica principal del hueso.

**Endosteal.-** Relativo al *endosteum*. Membrana fibrosa que reviste la cavidad medular en el hueso.

**Epífisis.-** Extremos proximal y distal del hueso.

**Dieta.-** Conjunto de componentes alimentarios que se ingieren con la finalidad de cubrir diversos procesos metabólicos.

**Dimorfismo sexual.-** Característica dentro de algunas especies que consiste en la presencia de diferencias fenotípicas inter-sexuales, especialmente al llegar a la adultez.

**Enriquecimiento isotópico.-** Diferencia entre cantidad de  $^{15}N$  o  $^{13}C$  con respecto a una cantidad previa. Una sustancia enriquecida en  $^{15}N$  o  $^{13}C$  estará disminuida isotópicamente en  $^{14}N$  y en  $^{12}C$  respectivamente.

**Epipelágico.-** Estrato vertical entre 0 y 200 metros de profundidad en el área oceánica en donde los niveles de luz aún permiten una tasa neta positiva de fotosíntesis.

**Estrategias de alimentación.-** Conjunto de tácticas con la que un depredador selecciona distintos tipos de presas en el ambiente.

**Fidelidad al sitio.-** Patrón conductual a partir del cual un individuo regresa a un mismo sitio, natal o no.

**Fraccionamiento isotópico.-** El enriquecimiento o reducción en la concentración de un isótopo estable que se presenta en un depredador con respecto a su presa, resultado de una discriminación metabólica hacia el isótopo pesado.

**Generalista.-** Especies que no presentan selectividad en el alimento o por una presa en particular.

**Hueso cortical.-** También llamado compacto. Constituye la mayor parte de la diáfisis de los huesos largos así como de la parte externa de todos los huesos del cuerpo. Contiene osteones y láminas intersticiales.

**Hueso trabecular.-** También conocido como esponjoso. Es el principal constituyente de las epífisis de los huesos largos y del interior de la mayor parte de los huesos. No contiene osteones, sino que las láminas intersticiales están dispuestas de forma irregular formando unos tabiques o placas llamadas trabéculas, que forman una estructura esponjosa dejando huecos que están llenos de la médula ósea roja.

**Isótopo.-** Átomos de un mismo elemento con igual número de protones y electrones pero diferente número de neutrones.

**Isótopo estable o pesado.-** Isótopo que no demuestra ninguna tendencia a experimentar la descomposición radiactiva o espontánea durante procesos metabólicos debido a sus características atómicas.

**Liofilización.-** Método de desecación en el que se elimina el agua por congelación del producto húmedo y posterior sublimación del hielo en condiciones de vacío. Al suministrar calor, el hielo sublima y se evita el paso por la fase líquida.

**Metabolismo.-** Conjunto de reacciones químicas que efectúan constantemente las células de los seres vivos con el fin de sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o degradar aquellas para obtener estas.

**Mesopelágico.-** Estrato vertical oceánico entre 200 y 1000 metros. Corresponde a la zona en donde la penetración de la luz es insuficiente para sostener una productividad neta positiva.

**Muda.-** También conocido como “pelecho”. En los mamíferos este término hace referencia, a la sustitución del pelo viejo por pelo nuevo, tras sufrir éste, un desgaste importante por el paso del tiempo y por el efecto de las inclemencias medioambientales (frío, calor, humedad, viento, etc.).

**Nicho ecológico.-** Posición estructural de un organismo dentro de un ecosistema, incluyendo su posición trófica, hábitat y su relación con el medio ambiente físico y biótico circundante.

**Nivel trófico.-** Posición o categoría en la que se clasifica un determinado organismo dentro de la cadena trófica; dicha posición está dada de acuerdo a la manera en la cual obtiene su materia y energía.

**Odontoblastos.-** Células formadoras del diente.

**Osteoblastos.-** Células responsables de la secreción y remodelación del hueso. Se encuentran en las superficies óseas y a medida que segregan los materiales de la matriz ósea, esta los va envolviendo, convirtiéndolos en osteocitos.

**Osteocitos.-** Células óseas maduras derivadas de los osteoblastos que constituyen la mayor parte del tejido óseo. Su función es la de mantener las actividades celulares del tejido óseo como el intercambio de nutrientes y productos de desecho.

**Osteoclastos.-** Células encargadas de la destrucción del hueso. Se asientan sobre la superficie del hueso y proceden a la destrucción de la matriz ósea por reabsorción.

**Periosteal.-** Relativo al *periosteum*. Membrana fibrosa vascular que cubre externamente el hueso excepto en sus extremos.

**Poliginia.-** Sistema de apareamiento de algunas especies donde los machos se aparean con más de una hembra durante la temporada reproductiva.

**Procesos tafonómicos.-** Procesos de fosilización mediante los cuales, un organismo, alguna parte de él, sus huellas o los productos de su metabolismo, pasan a formar parte del registro fósil, en un yacimiento paleontológico.

**Tasa de recambio isotópico.-** Periodo en el que las razones isotópicas de un tejido reflejan la señal o firma isotópica de una dieta en particular. Los tejidos con una tasa de recambio isotópica rápida reflejarán una dieta reciente mientras que aquellos tejidos con una tasa de recambio lenta reflejarán la dieta promedio representativa de un periodo más extenso.

**Tasa de renovación o remodelación.-** Periodo de renovación de un tejido

**Tasa metabólica.-** Medida de la energía que utiliza un animal en un período de tiempo dado.

**Tasa Metabólica Basal.-** Cantidad mínima de energía requerida por el animal para mantenerse vivo en condiciones normales de reposo y bienestar.

**Transaminación.-** Reacción bioquímica del metabolismo de un aminoácido, en la que un grupo amino ( $-NH_2$ ) pasa de un aminoácido a un cetoácido para formar un nuevo aminoácido.

**Vascularización.-** Irrigación de los pequeños vasos sanguíneos y linfáticos en un órgano, tejido o región del organismo.

## RESUMEN

Los hábitos alimentarios de *Mirounga angustirostris* a lo largo de su vida, fueron explorados mediante el análisis de isótopos estables, en colágeno dental de capas de crecimiento en el diente, de especímenes varados en México (Islas San Benito (SB)=25; Isla Magdalena (MG)=10 y California (Isla Año Nuevo = 1) recolectados durante 1981 – 2008. El intervalo de edad determinado por conteo de las capas de crecimiento, varió entre 1 a 16 años. Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  fueron estadísticamente diferentes (ANOVA  $p < 0.05$ ) entre las clases de edad, indicando cambios en los hábitos alimentarios a lo largo de su vida; y entre individuos de un mismo sexo, sugiriendo una probable diversificación de estrategias alimentarias. Los valores anuales de  $\delta^{13}\text{C}$  entre cada animal fueron muy estables, sugiriendo una fidelidad a los sitios de alimentación. El fraccionamiento isotópico calculado entre la supuesta capa de crecimiento fetal y el valor teórico promedio de hembras adultas ( $\delta^{15}\text{N} = 1.87\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -0.44\text{‰}$ ), es similar al fraccionamiento ocurrido entre crías y madres, sugiriendo que esta primera capa en el diente corresponde al periodo de lactancia. Los valores isotópicos promedio para machos fueron:  $\delta^{15}\text{N} = 18.36 \pm 0.88\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -13.15 \pm 0.65\text{‰}$  y para hembras fueron:  $\delta^{15}\text{N} = 18.20 \pm 1.32\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -13.96 \pm 0.66\text{‰}$ ; sugiriendo las diferencias en  $\delta^{13}\text{C}$  (ANOVA  $p < 0.05$ ), una alimentación más costera en los machos; mientras que en  $\delta^{15}\text{N}$ , las diferencias aunque no significativas, sugieren que los machos podrían consumir presas de mayor nivel trófico que las hembras y en altas latitudes, donde los valores isotópicos bajos desde la base de la trama trófica equiparan los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de ambos sexos. Se estimó el nivel trófico de 4.6 (carnívoro secundario terciario) y una amplitud trófica de depredador de tipo especialista ( $\sigma^2 < 1$ ). No se encontraron diferencias en  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre los periodos de distinta intensidad de alimentación en un año (ANOVA  $p > 0.05$ ). Se analizó isotópicamente el colágeno óseo de la mandíbula de 18 individuos recolectados en SB y MG y se comparó con sus respectivas firmas isotópicas en dentina, no difiriendo en  $\delta^{15}\text{N}$  (ANOVA  $p > 0.05$ ), indicando que la actividad metabólica en ambos tejidos es similar, pese a sus distintas tasas de recambio. La correlación entre el  $\delta^{15}\text{N}$  de ambos tejidos, indicó que probablemente el  $\delta^{15}\text{N}$  de la mandíbula integra los últimos 4 años de vida del animal ( $r = 0.99$ ,  $p < 0.001$ ).

## ABSTRACT

Lifetime feeding habits of *Mirounga angustirostris* were explored with stable isotope analysis in tooth collagen from growth layer groups (GLG) in animals stranded in Mexico (San Benito Islands = 25; Magdalena Island = 10) and California (Año Nuevo Reserve = 1) collected during 1981 to 2008. The age range determined by counting of GLG varied from 1 to 16 years.  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values were statistically different among age classes (ANOVA  $p < 0.05$ ) suggesting shifts in feeding habits along the lifetime; and between individuals of the same sex, suggesting a probably diversification of feeding strategies. The annual  $\delta^{13}\text{C}$  values within each animal were very stable, suggesting individual fidelity to feeding grounds. The calculated isotopic fractionation ( $\delta^{15}\text{N} = 1.87 \text{ ‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -0.44 \text{ ‰}$ ) between the suspected fetal layer growth and the average expected value from adult females, is similar to pup-mother isotope fractionation, suggesting that this first layer on the permanent tooth is actually formed during the intense lactation. The average isotope values for males were:  $\delta^{15}\text{N} = 18.36 \pm 0.88 \text{ ‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -13.15 \pm 0.65 \text{ ‰}$  and for females were:  $\delta^{15}\text{N} = 18.20 \pm 1.32 \text{ ‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -13.96 \pm 0.66 \text{ ‰}$ , suggesting differences in  $\delta^{13}\text{C}$  (ANOVA  $p < 0.05$ ), a more coastal feeding in males, whereas in  $\delta^{15}\text{N}$ , the differences although not significant, suggest that males may consume preys of higher trophic level than females and in high latitudes, where low isotopic values from the base of the food chain equate  $\delta^{15}\text{N}$  values of both sexes. Trophic level was estimated in 4.6 (secondary-tertiary carnivore) and a niche trophic width of specialist predator. No isotope values differences between the two periods within a year (intense and low feeding) were significant (ANOVA  $p > 0.05$ ). The results of jaw isotopic analysis of 18 individuals collected in SB and MG were compared with their respective isotopic signatures in dentin, and not differing in  $\delta^{15}\text{N}$  (ANOVA  $p > 0.05$ ), suggesting that the metabolic activity in both tissues is similar, although to their different turnover rates. A correlation between the two tissues  $\delta^{15}\text{N}$  values indicated that jaw  $\delta^{15}\text{N}$  values probably represents the integration of the last 4 years of life ( $r = 0.99$ ,  $p < 0.001$ ).

## 1. INTRODUCCIÓN

El elefante marino del norte, *Mirounga angustirostris*, es el segundo pinnípedo más grande en el mundo, superado en tamaño únicamente por su congénere en el hemisferio sur (*M. leonina*).

Se encuentra ampliamente distribuido en el océano Pacífico nororiental, desde el norte de Baja California Sur en México hasta las Islas Aleutianas en Alaska (Le Boeuf *et al.*, 2000). Los límites sur y norte de sus zonas de reproducción los constituyen las Islas Natividad, Cedros y San Benito en México, y las Islas Año Nuevo, Farallón y Point Reyes afuera de la Bahía de San Francisco en California, E.U.A. (R. Condit, *com. pers.*<sup>1</sup>).

Durante su fase adulta, *M. angustirostris* presenta un acentuado dimorfismo sexual. Los machos pueden ser hasta diez veces más grandes que las hembras y poseen una larga probóscide (Le Boeuf y Laws, 1994), su longitud promedio en machos adultos es de 3,8 a 4,1 m, llegando a pesar hasta 2 300 Kg, mientras que las hembras miden entre 2,8 y 3 m y pesan entre 400 a 600 Kg (Stewart y Huber, 1993). La estrategia de apareamiento es de tipo poligínico con establecimiento de harenes de tamaño variable entre 2 y 100 hembras (Le Boeuf, 1972). Las hembras paren una cría por año, la cual al nacer, posee un pelaje negro que muda a las 4 o 6 semanas de edad; pesa alrededor de 34 Kg, aumentando hasta 130 Kg al destete, que ocurre entre los 28 y 29 días de nacido (Le Boeuf *et al.*, 1989).

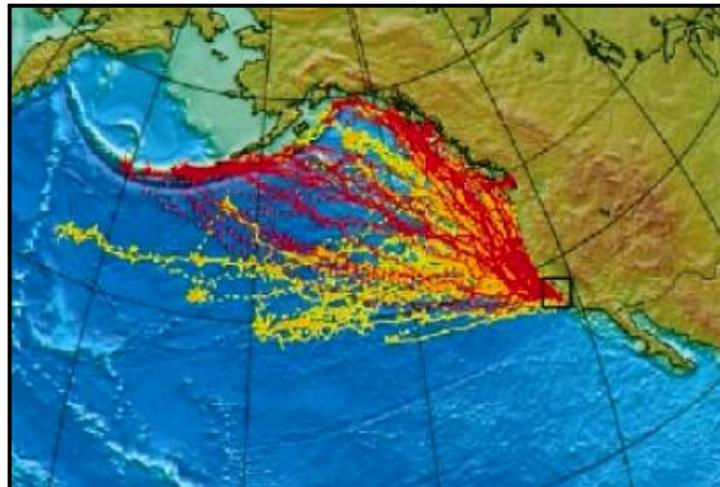
Realizan dos migraciones de alimentación al año, seguidas por periodos de ayuno en los que permanecen en sus colonias de origen. El primero asociado al proceso de muda en verano (de abril a agosto), periodo en el cual eliminan a través de su piel, elementos tóxicos como el amoniaco, que han ido acumulando en su organismo, debido a la alimentación intensiva que sostuvieron en meses pasados (Gallo-Reynoso, 2005) y el segundo asociado a su período reproductivo en invierno (entre diciembre y marzo).

---

<sup>1</sup> Smithsonian Tropical Research Institute, Apdo. Postal 0843-03092, Balboa, Ancón, República de Panamá.

Durante los viajes de alimentación realizan numerosas inmersiones con una frecuencia de hasta 120 al día, y donde los buceos de alimentación duran en promedio entre 20 a 28 minutos con profundidades medias de entre 330 a 470 m. En animales de más de dos años de edad, la profundidad del buceo es independiente de la edad y la masa, sin embargo son los machos adultos los que bucean a profundidades máximas de más de 1500 m (Le Boeuf, 1994).

Estudios de telemetría (Le Boeuf *et al.*, 2000) realizados en elefantes marinos del norte de Isla Año Nuevo, indicaron que estos animales tienen un rango de distribución más amplio de lo que se conocía por avistamientos (Fig.1), llegando los machos durante sus migraciones de alimentación muy al norte de la costa de Oregon en Norteamérica y al oeste de las Islas Aleutianas en Alaska, de 42° a 58°N. El área final de la migración de los machos se ubica en la orilla de la plataforma continental donde se localizan zonas focales de alimentación.



**Figura 1.** Rastreo satelital de 22 machos adultos (líneas rojas) y 17 hembras adultas (líneas amarillas) de *Mirounga angustirostris*, durante las migraciones de primavera (post-lactancia) y otoño (post-muda) desde Isla Año Nuevo (cuadro negro) durante 1995, 1996 y 1997 (Tomado de Le Boeuf *et al.*, 2000).

En el caso de la migración de las hembras, el destino de sus viajes se ubica en una amplia región del Pacífico noreste, localizada entre 38° y 58° N y 125° a 172°

E. Las áreas focales de alimentación de las hembras adultas también incluyen zonas de la costa de Oregon, el Golfo de Alaska y la Isla Vancouver.

A pesar de que se conoce mucho acerca de las migraciones del elefante marino, su comportamiento de buceo y fisiología, cuando se trata de los hábitos alimentarios de esta especie, la información es muy limitada. Esto se debe a que los animales se alimentan muy lejos de la costa y permanecen sumergidos por largos periodos de tiempo durante sus buceos de alimentación (Walker *et al.*, 1999). Cuando los animales llegan a tierra para reproducirse (invierno) o mudar (verano), no defecan en tierra porque durante la travesía de regreso, su alimento ya ha sido digerido y excretado. La poca información existente que procede del análisis estomacal de especímenes muertos y de observaciones “in situ” de animales alimentándose, indica que se alimentan de una variedad de especies que incluyen calamares, merluzas, peces de profundidad, rayas y pequeños tiburones (Condit y Le Boeuf, 1984).

Una técnica complementaria en los estudios de ecología trófica, es el análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno que pueden ser medidos en distintos tejidos y explora ventanas temporales que van desde días (sangre) hasta años (dentina), de acuerdo a la tasa de renovación de los tejidos y su tasa metabólica (Tieszen, *et al.*, 1983, Owens, 1987, Rau *et al.*, 1992, Hobson y Welch, 1992, Hobson, *et al.* 1996); que si bien no proporciona la identidad específica de las presas si mide variaciones que en el caso del  $\delta^{13}\text{C}$ , se asocian a los diferentes ambientes o fuentes de energía (marino/ dulceacuícola, costero/ oceánico, pelágico/ bentónico) que los consumidores están utilizando como sitios de alimentación (Hobson *et al.*, 1997 y France, 1995) o bien variaciones en  $\delta^{15}\text{N}$  que permiten evaluar de manera más precisa, el nivel y la amplitud trófica de los organismos (Vander-Zanden, 1997; Post, 2002; Bearhop, *et al.*, 2004).

La variación o enriquecimiento en el isótopo estable de  $\delta^{13}\text{C}$  se relaciona con factores como: la composición isotópica y concentración de  $\text{CO}_2$  disuelto (Rau *et al.*, 1992; Goericke y Fry, 1994; Hinga *et al.*, 1994), la composición de las presas y la tasa de crecimiento del fitoplancton (Fry y Wainright, 1991; Pancost *et al.*, 1997), la

frecuencia de los afloramientos fitoplanctónicos (Kurle, 2002), la cantidad de productividad primaria (Descolas-Gros y Fontugne, 1990; Cullen *et al.*, 2001; Kurle, 2002) y la entrada de carbono por parte de macrófitas bénticas, que se encuentran enriquecidas en  $\delta^{13}\text{C}$  con relación al fitoplancton (Michener y Schell, 1994; France, 1995). En el caso del  $\delta^{15}\text{N}$ , existe un enriquecimiento sucesivo de  $\delta^{15}\text{N}$  a lo largo de los niveles tróficos (Owens, 1987; Vander-Zanden, 1997; Post, 2002; Bearhop, *et al.*, 2004).

La técnica de los isótopos estables se basa en la premisa de que la señal isotópica de un tejido es formado por el alimento asimilado, por consiguiente la composición isotópica del consumidor generalmente refleja la información isotópica de sus presas con su respectivo grado de fraccionamiento, el cual es de 0,5 - 1‰ para el  $\delta^{13}\text{C}$  y de 3 a 5‰ aproximadamente cuando se trata del  $\delta^{15}\text{N}$  (DeNiro y Epstein, 1978; Fry, *et al.*, 1984; Hobson y Welch, 1992; Minagawa y Wada, 1984).

En estudios de ontogenia alimentaria, el análisis de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en dentina resulta ser conveniente, debido a que se tiene acceso a cada una de las capas de crecimiento (translúcida y opaca) que se depositan anualmente, no sufren metabolización posterior y por tanto ofrecen un resumen isotópico anualizado de los hábitos alimentarios y conductas de migración o ayuno de la especie (Hobson y Sease, 1998).

Los periodos de ayuno o de estrés nutricional, pueden detectarse como un incremento en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  en subcapas de dentina (tejido del consumidor) debido a la utilización de las reservas de  $\delta^{15}\text{N}$  disponibles para la síntesis de proteína y derivadas principalmente del catabolismo (Hobson *et al.* 1993).

Otro tejido que permite explorar los hábitos alimentarios generales de las especies y medir variaciones isotópicas a lo largo de años y décadas, es el tejido óseo que a diferencia de la dentina presenta la tasa de recambio más lenta, integrando la información de los últimos años de vida de un individuo (Klevezal, 1996; Hobson y Sease, 1998).

En el presente estudio se describieron los hábitos alimentarios de *Mirounga angustirostris* a lo largo de su vida, mediante la interpretación de las señales isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en colágeno dental. Se espera una correspondencia entre los valores isotópicos de carbono y nitrógeno con las diferencias en la historia de vida de ambos sexos y con cada etapa de desarrollo en los individuos. A su vez, se exploraron las posibles diferencias intra-anales, potencialmente asociadas a periodos de menor y mayor intensidad de alimentación (reproducción-abstinencia *versus* migración-alimentación). El estudio se complementó con el análisis isotópico en colágeno óseo, comparando las señales de ambos tejidos y determinando el tiempo de información integrada en el hueso.

### **Características de los dientes**

Los dientes en mamíferos pueden ser de crecimiento continuo o limitado. Los caninos en las llamadas verdaderas focas, como *M. angustirostris*, cesan el crecimiento en longitud en el 1er a 3er año de vida y durante todo el periodo de crecimiento del diente, las capas de dentina continúan acumulándose en su interior hasta ocupar la cavidad pulpar (Klevezal, 1996).

El diente está formado por dos partes. La raíz en la parte interna de la mandíbula cubierta superficialmente por cemento y la corona en la parte externa de la mandíbula cubierta en su superficie por esmalte. El tejido que forma la mayor parte del diente es la dentina, la cual es formada por actividad de los odontoblastos y está compuesta en un 65% de materia inorgánica, como la hidroxiapatita  $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}(\text{OH})_2$  y pequeñas concentraciones de zinc, estroncio, magnesio, manganeso, plomo, hierro y estaño y en un 35% de materia orgánica como fibras de colágeno y mucopolisacáridos (Klevezal, 1996).

El crecimiento anual de la capa de dentina es desde las paredes externas hacia el interior, de tal manera que las capas más tempranas en la vida del animal se encuentran más cerca del exterior y las que se forman después más cerca de la cavidad pulpar (Fig. 2). Cada capa consiste en dos bandas, una translúcida o hipermineralizada y otra opaca o hipomineralizada las cuales corresponden a

estados nutricionales de los animales resultado de una mayor o menor intensidad de alimentación respectivamente (Klevezal, 1996).



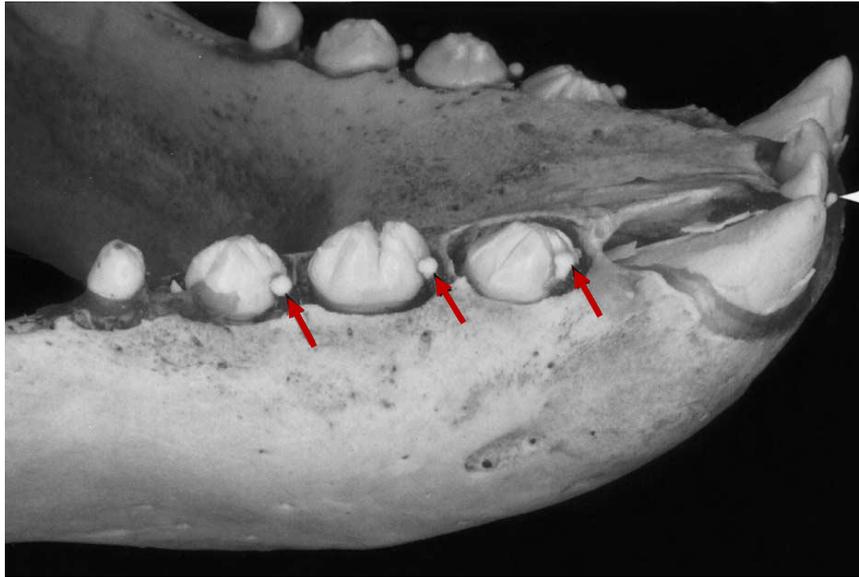
**Figura 2.** Diente canino superior de un macho adulto de elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) dividido longitudinalmente. Se pueden observar las capas de crecimiento anual (parte superior izquierda del diente) y la huella dejada por el microtaladro al muestrear cada una de ellas (parte superior derecha).

El patrón en la formación anual de capas de dentina se ha validado con varias técnicas: realizando estudios que involucran capturas a lo largo del año (McLaren, 1958) o con individuos de edades conocidas (Laws, 1962); o mediante el marcaje de animales desde la etapa de crías, donde después se recuperan los dientes cuando el animal muere. En este caso el número de capas de crecimiento coinciden con la edad del animal (Aurioles *et al.*, datos no publicados). Otro método alternativo, es la tinción con tetraciclina y alizarina, que consiste en inyectar al animal, una cierta cantidad de cualquiera de estas sustancias, que tiñe una capa de crecimiento en el diente en una fecha conocida, que posteriormente se verifica cuando el animal muere (Klevezal, 1996).

### **Tipos de dentición**

Los pinnípedos presentan dos tipos de dentición; la decidua, durante el crecimiento embrionario dentro del útero de la madre y la permanente, después del nacimiento.

En los fócidos, los dientes deciduos, pequeños y no funcionales, aparecen de 4 a 6 semanas después de la implantación del blastocisto, alcanzando su máximo desarrollo a los 3 meses de vida fetal (Meyer y Matzke, 2004) para luego desaparecer por procesos de reabsorción al poco tiempo de nacido (Laws, 1953; King, 1983), pudiendo ocasionalmente persistir en la boca por muchos años, incluso en el 12vo año de edad en el elefante marino del norte (Briggs, 1974; Abbott y Verstraete, 2005), (Fig. 3). Se conoce que la erupción de los caninos permanentes en *M. leonina* es en promedio entre los 8 a 10 días después del nacimiento, mientras que los molares tardan hasta dos veces más en aparecer, (Briggs, 1974).



**Figura 3.** Persistencia de los dientes deciduos en la mandíbula de una hembra juvenil de *Mirounga angustirostris*. Las flechas indican los dientes deciduos a la derecha de cada diente permanente (Tomado de Abbott y Verstraete, 2005).

### **Características del tejido óseo**

El tejido óseo como la dentina, consiste de componentes inorgánicos y orgánicos. Está compuesto en un 25% de agua, 45% de sales minerales como fosfato, carbonato de calcio, magnesio, fluoruros, citrato y cloruros y en 30% de materia orgánica, principalmente colágeno (en un 90 a 95% del total de la matriz orgánica) y por otras proteínas (Klevezal, 1996).

Se encuentra organizado dentro de dos tipos de hueso: 1) el hueso cortical o compacto, el cual es denso y está presente en la diáfisis de los huesos largos y en el extremo de las placas vertebrales y, 2) el hueso trabecular o esponjoso, asociado con la médula y los espacios del hueso cortical, presente en los extremos de los huesos largos y el núcleo de las vértebras. Los cuales representan el 80 y 20% del total de los huesos del cuerpo respectivamente (Caulfield y Reitz, 2004).

Los principales cambios en cuanto a tamaño y forma de los huesos suceden durante el crecimiento, en un proceso llamado modelación. El crecimiento en grosor del hueso, se da por la adición sucesiva de elementos alrededor del mesénquima, en donde también son incluidos vasos sanguíneos; siendo el crecimiento más intensivo en la fase temprana de vida de los individuos (etapa fetal) hasta la infancia, y decreciendo con la edad pero sin detenerse por completo (Klevezal, 1996).

El tejido óseo difiere de la dentina no solo en la presencia de osteocitos y vasos sanguíneos, sino en la continua reabsorción y remodelación que ocurre cada cierto periodo que se mantiene en el tiempo (Hedges *et al.*, 2005), e implica la remoción y reemplazo del tejido existente por uno nuevo que es formado por disolución y re-precipitación (Caulfield y Reitz, 2004), cambiando en estructura y suscitándose una movilización sustancial de compuestos minerales (Klevezal, 1996).

Debido a que el hueso es un tejido duro, la remodelación sucede únicamente en centros activos periosteal y endosteal, superficies del hueso trabecular y en los revestimientos de canales vasculares de los huesos corticales. La tasa de recambio varía en tiempo de un sitio a otro, siendo la remodelación del hueso trabecular entre 5 a 10 veces más rápido que el hueso cortical (Ortner y Turner, 2003).

## 2. ANTECEDENTES

En la última década se han realizado una gran cantidad de estudios sobre hábitos alimentarios en pinnípedos con base en isótopos estables de carbono y nitrógeno. Específicamente en elefantes marinos del norte, han permitido corroborar las áreas de alimentación de esta especie, correspondiendo en los machos a altas latitudes y en las hembras a latitudes medias (Burton y Koch, 1999), con una evidente segregación inter-sexual (Le Boeuf *et al.*, 2000). Auriolles y colaboradores en el 2006, identificaron una segregación entre las hembras de elefante marino del norte de las Islas San Benito, B. C. y las hembras de Año Nuevo, California, determinando que las hembras mexicanas se alimentaban  $\sim 8^\circ$  al sur respecto a las hembras de Año Nuevo. Mientras que en *M. leonina*, su congénere en el hemisferio sur, han permitido conocer una posible diversificación de dietas en los machos de esta especie (Lewis *et al.*, 2006).

Le Boeuf y Crocker en el 2005, indicaron que los elefantes marinos del norte son significativamente afectados por las dinámicas de temperatura en el océano, a pesar de que presentan un amplio rango de alimentación en aguas profundas, más allá de las termoclinas costeras en el Pacífico noreste. Estos autores encontraron una asociación, entre las altas temperaturas oceánicas y una disminución en el éxito de alimentación de las hembras.

Uno de los primeros trabajos en analizar isótopos estables en capas de dentina fue el realizado por Hobson y Sease (1998) en dientes de lobo marino de Steller (*Eumetopias jubatus*) principalmente con el fin de determinar su variación ontogénica, encontrando una asociación entre las variaciones isotópicas y la duración de la lactancia así como con cambios en las condiciones ambientales.

Otro estudio reciente, en el que se analizaron muestras de dentina y tejido óseo, determinó variaciones  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  a lo largo de la vida del lobo fino del norte (*Callorhinus ursinus*) de las Islas Pribilof y de lobos marinos de California de la Isla Santa Margarita BCS, México (Newsome *et al.*, 2006), para discernir patrones de

alimentación no solo relacionados con la edad de los individuos, sino también con la diversificación de dietas a nivel de población.

Algunos estudios se han enfocado en la lactancia, que en las capas de dentina presenta una señal isotópica particular. Entre ellos podemos citar a Hobson y Sease, 1998; Newsome *et al.*, 2006 y Hobson *et al.*, 2004. Estos últimos determinaron los valores isotópicos de 113 lobos marinos de Steller del Golfo de Alaska a lo largo de varios años, además de la relación entre las variaciones en las señales isotópicas de C y N con cambios en las zonas de alimentación y consumo de presas de distinto nivel trófico. Mientras que Newsome *et al.*, (2007) exploró los cambios en el régimen alimentario del lobo fino del norte (*Callorhinus ursinus*) en los últimos 8500 años.

Cambios temporales en la estructura de la red trófica, a lo largo de varios años en grandes ecosistemas como el Mar del Norte en el Atlántico, han podido ser determinados mediante el análisis isotópico del colágeno óseo de *Phocoena phocoena* (Christensen y Richardson, 2008); sugiriendo que animales de un menor nivel trófico son más abundantes en este ecosistema durante las últimas décadas.

Otros estudios que implican el análisis isotópico en huesos de otáridos han permitido determinar cambios en los hábitos alimentarios de las especies a lo largo de décadas, que pudieran reflejar cambios en el ecosistema (Burton *et al.*, 2001; Hirons *et al.*, 2001); o bien, con el desarrollo de las pesquerías (Drago *et al.*, 2009). Inclusive han permitido detectar episodios dentro de la vida de los individuos, como el periodo de lactancia en ciertos otáridos (Newsome *et al.*, 2006).

Diversos estudios sobre ontogenia alimentaria realizados en cetáceos, indican que existe un incremento en el nivel trófico y cambios en las zonas de alimentación conforme los individuos aumentan de categoría de edad (Niño-Torres *et al.*, 2006; Mendes *et al.*, 2007). También detectaron la influencia del cuidado materno y de las corrientes oceánicas (Knoff *et al.*, 2007).

Los perfiles isotópicos en dientes de odontocetos han sido utilizados para investigar distintos aspectos como por ejemplo: 1) diferencias en las fechas de los viajes migratorios ontogénicos, 2) diferencias en la historia trófica de cada individuo y

entre sexos, y 3) la biogeoquímica de las diferentes regiones inhabitadas, así como su potencial para permitir inferencias sobre la sub-estructura de la población (Mendes *et al.*, 2007).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Uno de los aspectos relevantes de la información que brindan los estudios de alimentación en pinnípedos, es la posibilidad de diagnosticar problemas que afectan al crecimiento de sus poblaciones. Se ha probado en varias especies, que el análisis de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en colágeno dental es un medio eficiente para describir perfiles isotópicos ontogénicos y determinar patrones alimentarios poblacionales generales o asociados con cambios en el ecosistema o conductas como el cuidado materno o la migración. En el caso de *M. angustirostris*, en que la información sobre su alimentación es muy escasa, este estudio pretende aportar información detallada, sobre la historia de vida trófica de este fócido de un extremado dimorfismo sexual.

### **4. HIPÓTESIS**

Las variaciones en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en colágeno dental de elefante marino del norte deberán corresponder con las diferencias entre las áreas de alimentación conocidas de la especie.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Describir el perfil ontogénico alimentario del elefante marino del norte con base en señales isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno dental.

### 5.2 Objetivos específicos

- Explorar e interpretar los patrones de variación de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  a lo largo de la vida de los animales.
- Determinar diferencias inter e intra sexuales en el elefante marino del norte con base en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en el colágeno dental.
- Determinar la posible diferencia en  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre sub-capas de dentina dentro de un mismo año de edad en machos, para evaluar una potencial diferencia entre periodos de distinta intensidad de alimentación.
- Estimar la amplitud y nivel trófico de individuos de ambos sexos con base en el análisis de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ .
- Explorar la posible diferencia en las señales isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno dental y óseo de *M. angustirostris* a lo largo de su ontogenia.

## 6. ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en tres sitios ubicados en la región nororiental del océano Pacífico (Fig. 4).



**Figura 4.** Localidades donde se recolectaron dientes y cráneos de *Mirounga angustirostris* utilizados para caracterizar su ontogenia alimentaria.

## **Isla Año Nuevo**

Es una pequeña isla ubicada en la parte central de California (37° 06.30' N y 122° 20.09' O) muy cercana a la costa (a 35,41 Km del Puerto de Santa Cruz), con una extensión de 16 Km<sup>2</sup> y una elevación máxima de 13 msnm (Orr y Poulter, 1965). La precipitación anual promedio es de 50 cm. La temperatura media anual es de 13° C, registrándose en septiembre la temperatura más alta (24° C) y en enero la más baja (4° C).

La isla Año Nuevo se encuentra en constante cambio. Hace unos 200 años estuvo conectada al continente por una estrecha península y actualmente está separada del mismo por un canal que crece ampliamente con cada tormenta de invierno. Forma parte de la Reserva Estatal de Año Nuevo, que es propiedad y está operado por el Parque Estatal de California, debido al hábitat altamente sensible y por la presencia de colonias de anidación de aves marinas y de varias especies de mamíferos marinos, como el elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*), el lobo marino de California (*Zalophus californianus*), la foca de puerto (*Phoca vitulina*) y el lobo marino de Steller (*Eumetopias jubatus*). La nutria (*Enhydra lutris*) y el lobo fino del norte (*Callorhinus ursinus*) son visitantes ocasionales de la isla.

La población de *M. angustirostris*, exterminada en la zona hace más de 100 años se recuperó desde 1961 (Radford *et al.*, 1965), alcanzando su capacidad de carga a finales de 1970. Actualmente se estima que la población en el total de sus colonias supera los 161,000 animales (R. Condit, *com. pers.*<sup>1</sup>).

## **Islas San Benito**

Son un complejo insular localizado a 30 km al noroeste de la Isla Cedros en el estado de Baja California Sur, México (entre 28° 18' y 28° 21' N; 115° 22' y 115° 32' O), constituido por tres pequeñas islas volcánicas cercanas entre sí con un área combinada de 6.4 Km<sup>2</sup>. Las islas llevan los nombres de Isla San Benito del Este, Isla San Benito del Centro e Isla San Benito del Oeste (Boswall, 1978); siendo esta última la más extensa (3.46 Km) y con mayor elevación (216 msnm) de las tres. El clima de las islas es árido con una precipitación anual promedio de 65.1 a 121.3 mm.,

presentándose el 95% del total de precipitación de diciembre a febrero (Junak y Philbrick, 1999). La temperatura promedio anual varía entre 19 y 20.6° C, registrándose en enero y febrero las temperaturas más bajas, entre 15.3 y 17.6° C (Junak y Philbrick, 1999).

Las islas San Benito pertenecen al sistema de Áreas Naturales Protegidas debido a la presencia de varias especies endémicas y a varios pinnípedos que visitan estas islas durante las temporadas reproductivas. Constituyen la única zona donde se encuentran las cuatro especies de pinnípedos que habitan en México: el lobo marino de California, (*Z. californianus*), el elefante marino del Norte (*M. angustirostris*), el lobo fino de Guadalupe (*Arctocephalus townsendi*) y la foca de puerto (*P. vitulina*) las cuales se encuentran distribuidas a lo largo de las tres islas, a excepción de la foca de puerto que no se encuentra en la isla central.

La población de *M. angustirostris* en las Islas San Benito se encontraba en crecimiento hasta 1975 (Le Boeuf y Laws, 1994), pero se ha estabilizado en aproximadamente 11,000 individuos en años recientes (García-Aguilar, 2004).

### **Isla Magdalena**

Fracción insular del complejo lagunar Bahía Magdalena-Almejas en el Golfo de Ulloa, costa occidental de la Península de B.C.S., México. La isla mide aproximadamente 90 km de largo y tiene forma de escuadra, se localiza entre los 24° 32' y 25° 16' N y 112° 18' y 112° 03' O (Funes *et al.* 2007) y constituye una zona de descanso de lobos marinos (*Z. californianus*) principalmente de machos subadultos y adultos de edad avanzada aunque también se encuentran hembras y algunas crías en menor proporción. A lo largo de la playa occidental de esta isla se ha documentado la presencia de animales varados de diferentes especies de pinnípedos y cetáceos.

En el complejo lagunar Bahía Magdalena-Almejas, el clima es seco semi-cálido, con temperatura del aire promedio anual superior a los 18° C, registrándose la

temperatura mínima en enero (14.5° C) y máxima en agosto-septiembre (32° C). La precipitación anual promedio fluctúa entre 48.5 y 153 mm (Funes *et al.* 2007).

El complejo lagunar se encuentra en la zona de transición templado-tropical (ZTTT), y está influenciado por el sistema de la Corriente de California (SCC) lo cual permite la mezcla de especies de características tropicales y templadas (Lynn y Simpson, 1987; Moser *et al.*, 1987). Se han observado afloramientos frecuentes al sur de Bahía Magdalena, principalmente durante los meses de marzo, abril y mayo (Chávez-López y Schmitter-Soto, 1995), así como una región fuera de la costa donde se registran frentes térmicos de mesoescala, que persisten durante todo el año, lo que permite que esta zona sea muy productiva (Etnoyer, *et al.*, 2004).

## **7. METODOLOGÍA**

Las muestras de dientes provienen de la colección de cráneos del Laboratorio de Ecología de Pinnípedos “Burney J. Le Boeuf” del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN); los cuales pertenecen a especímenes varados en las Islas San Benito (25 dientes y 12 cráneos), Isla Magdalena (10 dientes y 10 cráneos) en Baja California Sur, México, e Isla Año Nuevo (1 diente) en California, EUA, durante el periodo 1980-2008.

De cada individuo se extrajo el diente canino superior, por ser los más grandes y facilitar la estimación de la edad y posterior monitoreo de las capas de dentina. De cada cráneo se extrajeron muestras de la mandíbula y maxila del animal, mismas que fueron correlacionadas posteriormente.

### **7.1 Asignación del tamaño de muestra**

Debido a que se monitoreó cada una de las capas de crecimiento en el diente, las estimaciones de señales isotópicas por individuo estuvo de acuerdo a su edad, es así que para cada objetivo se tuvo un tamaño de muestra específico.

Para determinar la variación isotópica a lo largo de la vida de los animales (**objetivo 1**), se utilizaron todas las muestras (dientes) disponibles para el estudio y se clasificaron en las distintas categorías de edad de los individuos, monitoreando en cada animal, las distintas fases de edad: cría, juvenil, subadulto (sólo en machos) y adulto. Las mismas muestras permitieron estimar la amplitud trófica de manera general y por categoría de edad específica, así como también el nivel trófico para la especie, (**objetivo 4**).

La comparación de las señales isotópicas entre individuos del mismo sexo y de distinto sexo (**objetivo 2**), se hizo con las muestras correspondientes a machos y hembras desde su fase de cría; no se tomaron en cuenta los organismos de sexo indeterminado. Mientras que para la determinación de variaciones isotópicas dentro de un mismo año (**objetivo 3**), se realizó un doble muestreo en cada capa de dentina, únicamente en individuos machos, debido a que en estos animales los dientes son más grandes y anchos posibilitando el doble monitoreo.

La comparación entre las señales isotópicas del colágeno dental y óseo (**objetivo 5**), se hizo al utilizar el valor isotópico promedio de las distintas capas de dentina y la señal isotópica del cráneo de aquellos individuos con los que se cuentan ambas muestras. Además, se utilizó el valor isotópico del cráneo de cada individuo para determinar diferencias entre las clases de edad y sexo.

## **7.2 Determinación del sexo**

El sexo de los individuos se determinó con base a la observación de características de dimorfismo sexual muy marcadas en la especie. Como son: 1) tamaño del cráneo, que es significativamente mayor en machos y, 2) tamaño de los dientes caninos, mayores en machos que en hembras a la misma longitud de cráneo.

### 7.3 Determinación de la edad

Se realizó mediante el conteo del número de capas de crecimiento o estrías dentarias que se forman anualmente en el diente (Scheffer, 1950; Lluch, 1969; Auriol-Gamboa, 1988; Klevezal, 1996).

Cada diente fue dividido longitudinalmente con una cortadora de baja velocidad (Isomet, Modelo No. 11-1280-160), de tal manera que se obtuvieron dos partes simétricas. Únicamente se trabajó con una mitad de cada diente, la cual se pulió con lijas de diferentes grados de aspereza pasando del grano más grueso al fino (600 y 800) hasta conseguir una superficie tersa. Los dientes se lavaron con agua y se trataron con una solución de ácido fórmico, variando la concentración y tiempo de exposición al mismo de acuerdo al tamaño y grado de calcificación del diente. Al 10% durante el lapso de una hora en la mayoría de los casos (juveniles y adultos) y al 5% durante 30 minutos en crías. La acción del ácido es digerir las partículas de polvo que se encuentran entre las capas de crecimiento, lo cual permite observar diferencias en el color y relieve de las estrías. Luego del tratamiento con ácido, los dientes fueron lavados con agua corriente y secados al sol (Auriol-Gamboa, 1988).

La identificación y lectura de las capas de crecimiento de dentina se realizó con la ayuda de un microscopio estereoscopio, siendo el número total de ellas equivalentes al número de años que vivió el organismo, restando una que se forma en la etapa fetal (Klevezal, 1996). El promedio de las lecturas de tres observadores fue la que se utilizó para asignar la edad de cada individuo. El año de nacimiento se determinó a partir del año de recolecta (año de muerte) y el número de capas de dentina contadas, realizando un cálculo donde se asignó a cada capa un año específico partiendo del año de recolecta hasta llegar al primer año de edad del individuo.

El criterio utilizado para definir cada categoría de edad en los individuos, fue el propuesto por García-Aguilar en el 2004, que se detalla a continuación:

Cría: Hasta el momento del destete, los primeros 28 días de nacido

Juvenil: Animal sexualmente inmaduro hasta los 3 años en hembras y 4 años en machos.

Hembra adulta: Desde que alcanza su madurez sexual, siendo consideradas jóvenes las de 4 y 5 años y maduras a partir de los 6 años. Expectativa de vida: 19 años.

Macho subadulto: Desde que es sexualmente maduro, entre 5 y 8 años de edad.

Macho adulto: Cuando es sexual y socialmente maduro, a partir de los 9 años, pudiendo vivir hasta los 14 años de edad.

## **7.4 Análisis de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$**

### **7.4.1 Obtención de muestras**

Las muestras de dentina se extrajeron de cada capa de crecimiento utilizando un mini taladro computarizado de alta precisión (MicroMill System - Merchantek), siguiendo una ruta de muestreo de ~160  $\mu\text{m}$  de ancho y ~100  $\mu\text{m}$  de profundidad en la mayoría de los animales; y dos rutas de muestreo de ~80  $\mu\text{m}$  de ancho a la misma profundidad (una en cada banda) en los dientes de individuos machos, en donde las bandas translúcida y opaca, presentes en cada capa de crecimiento son fácilmente accesibles.

Las muestras de tejido óseo se obtuvieron mediante perforación con un taladro eléctrico en la mandíbula o maxila del cráneo de cada animal. La recolección de muestras de ambos tejidos de cada individuo se realizó en el laboratorio de Ecología de Pinnípedos "Burney J. Le Boeuf" del CICIMAR-IPN.

### **7.4.2 Preparación de muestras para análisis isotópico**

La obtención del colágeno dental se hizo a partir de la desmineralización en ácido clorhídrico al 0.1 N de las muestras de dentina pulverizada, las cuales se mantuvieron en un desecador por un periodo de entre 8 y 12 horas a una temperatura máxima constante de 60° C; se realizó este procedimiento por tres ocasiones con ácido clorhídrico y posteriormente una vez con agua corriente para

eliminar los restos del ácido. De las muestras secas, se pesó ~1 mg de cada una con la ayuda de una micro-balanza analítica con una precisión de 0.001 mg y se sellaron en cápsulas de estaño de 8 x 5 mm para su posterior análisis isotópico.

Las muestras de tejido óseo se desmineralizaron con ácido clorhídrico al 0.5 N durante 8 a 12 horas en un desecador a 60° C para la obtención del colágeno óseo. El material resultante se trató con una solución de cloroformo/ metanol/ agua (2:1:0.8) para la extracción de lípidos, según el método de Bligh y Dyer (1959) y posteriormente se liofilizó (para eliminar la humedad de la muestra). La extracción de lípidos se hace para evitar la introducción de artificios causados por el  $^{12}\text{C}$ , que se encuentra en altas concentraciones en el colágeno óseo y en el caso de no eliminarse, puede dar una estimación incorrecta de  $\delta^{13}\text{C}$  a valores más negativos (Kelly, 2000). Finalmente, se pesó 0.5 mg de la muestra seca y se selló en cápsulas de estaño para el análisis isotópico.

Las muestras de colágeno dental y óseo fueron analizadas isotópicamente utilizando un analizador elemental PDZ Europa ANCA-GSL en interface con un espectrómetro de masas de razones isotópicas de flujo continuo PDZ Europa 20-20 (Sercon Ltd.), en el Laboratorio de Isótopos Estables en la Universidad de California en Davis, EUA.

La proporción de isótopos estables de un elemento se representa a través de la notación delta ( $\delta$ ), con relación a un estándar internacionalmente conocido. Para el nitrógeno, el estándar utilizado fue el  $\text{N}_2$  atmosférico ( $\delta^{15}\text{N} = 0.004\text{‰}$ ), mientras que para el carbono, se utilizó el carbonato de calcio conocido como Pee Dee Belemnita (PDB) ( $\delta^{13}\text{C} = 0.011\text{‰}$ ). Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  reportados en partes por mil (‰), se calcularon a partir de las razones isotópicas medidas en la muestra y el estándar mediante la ecuación propuesta por DeNiro y Epstein en 1978:

$$\delta^{15}\text{N} \text{ o } \delta^{13}\text{C} = \left( \frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} - 1 \right) * 1000\text{‰}$$

Donde  $R_{\text{muestra}}$  y el  $R_{\text{estándar}}$  son los cocientes molares de los isótopos pesados sobre los livianos ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  o  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), presentes en la muestra y el estándar respectivamente.

La precisión analítica de la espectrometría de masas, se hizo mediante la calibración con un estándar de concentraciones isotópicas conocidas; como el sulfato de amonio (IAEA-N2) en el caso de  $\delta^{15}\text{N}$ , y la sucrosa (IAEA-CH-6) para el  $\delta^{13}\text{C}$ , el cual generó una desviación estándar dentro de las corridas de mediciones isotópicas,  $< 0.3\text{‰}$  para  $\delta^{15}\text{N}$  y  $< 0.2\text{‰}$  en el caso del  $\delta^{13}\text{C}$ .

## 7.5 Estimación del Nivel Trófico

El nivel trófico se estimó con la ecuación propuesta por Vander-Zanden *et al.*, en 1997 y revisada en el 2001 (Vander-Zanden y Rasmussen, 2001).

$$NT = \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{consumidor}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{organismo\_base}})}{3.4} + 2$$

Donde:

$\delta^{15}\text{N}_{\text{consumidor}}$  = Valor de  $\delta^{15}\text{N}$  de *M. angustirostris*.

$\delta^{15}\text{N}_{\text{organismo base}}$  = Valor de  $\delta^{15}\text{N}$  del consumidor primario (zooplancton).

3.4 ‰ = Fraccionamiento isotópico promedio a lo largo de la cadena trófica hasta depredadores tope (Minagawa y Wada, 1984).

- También se utilizó la ecuación propuesta por Post en el 2002.

$$NT = \lambda + \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{depredador}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{base}})}{\Delta_n}$$

Donde:

$\delta^{15}\text{N}_{\text{depredador}}$  = Valor de  $\delta^{15}\text{N}$  de *M. angustirostris*.

$\delta^{15}\text{N}_{base}$  = Valor de  $\delta^{15}\text{N}$  del organismo usado como base. Materia orgánica particulada (MOP) del lugar.

$\lambda$  = Posición del organismo usado como base. MOP, productor primario ( $\lambda = 1$ )

$\Delta_n$  = Fraccionamiento isotópico promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  a lo largo de la trama trófica hasta depredadores tope ( $\Delta_n = 3.4\text{‰}$ , Minagawa & Wada, 1984).

## 7.6 Estimación de Amplitud Trófica

La amplitud trófica se estimó según lo propuesto por Bearhop *et al.*, (2004), y Newsome *et al.*, (2007) los cuales mencionan que si las varianzas en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  o  $\delta^{13}\text{C}$  de los individuos entre poblaciones, temporadas o especies, son pequeñas ( $<1\text{‰}$ ), la población se considera especialista isotópico, mientras que si el tamaño de las varianzas es grande ( $>1\text{‰}$ ), la población es considerada generalista isotópico. Pudiendo utilizar para la discriminación uno o ambos isótopos.

Conforme este criterio, para estimar la amplitud del nicho trófico de manera general para la especie, se calculó el valor promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de cada animal y la varianza del grupo de datos. De manera puntual, la estimación de la amplitud trófica por categoría de edad, se realizó al calcular el promedio de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  correspondientes a cada fase de edad en los individuos y la varianza del total de datos por edad específica.

## 7.7 Análisis de datos

Se verificó la normalidad y homocedasticidad de los datos utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Levene respectivamente. Aquellos datos que no presentaron normalidad fueron analizados con pruebas de estadística no paramétrica.

El análisis de varianza simple (ANOVA) permitió comparar los valores isotópicos del colágeno dental de los animales a lo largo de su ontogenia; entre las clases de edad, entre sexos, entre individuos y de manera intra-anual. Se aplicó la

prueba de comparaciones múltiples de Tukey en los casos donde se encontraron diferencias significativas con el ANOVA. La variabilidad en los valores isotópicos a lo largo de cada perfil ontogénico se determinó mediante el cálculo del coeficiente de variación (CV).

La prueba de análisis de varianza por rangos (Kruskal Wallis), se utilizó para comparar las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  entre sitios (datos agrupados de manera general y por clases de edad); mientras, que el ANOVA se utilizó para comparar los valores de  $\delta^{13}\text{C}$ . Estas mismas pruebas estadísticas, permitieron determinar diferencias en los valores isotópicos en dos periodos del año entre las clases de edad de los individuos. Se aplicó la prueba de comparación múltiple entre medianas, en las variables significativas con el Kruskal Wallis y la prueba de Tukey en las variables significativas con el ANOVA.

El análisis de correlación simple permitió determinar la relación entre los valores isotópicos del colágeno óseo de la mandíbula y maxila de un mismo animal. Además se aplicó la prueba de t de student para comparar las señales isotópicas obtenidas de diferentes secciones del cráneo (mandíbula y maxila).

Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno óseo se compararon entre las distintas clases de edad, mediante la prueba de Kruskal Wallis; mientras que la comparación entre sexos, se hizo con la prueba de U de Mann Whitney.

La relación entre la señal isotópica del hueso y del diente se determinó mediante una serie de ejercicios de correlación simple, entre la señal promedio del tejido óseo con respecto al promedio obtenido de la sumatoria de las distintas capas de dentina; misma que permitió determinar, la integración de la señal isotópica contenida en el hueso de los animales. La comparación entre los valores isotópicos de ambos tejidos se hizo mediante un ANOVA. En todas las comparaciones el nivel mínimo de significancia considerado fue de  $P = 0.05$ .

Los análisis y gráficos estadísticos fueron realizados utilizando el programa Statistica® versión 7.0; mientras que los perfiles isotópicos de los individuos se hicieron con el programa Excel® (2007).

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Tamaño de muestra específico

Durante el estudio se analizó un total de 189 muestras isotópicas de colágeno dental y 40 de colágeno óseo. Los perfiles isotópicos fueron generados a partir de muestras de colágeno dental de cada animal, y posteriormente, los valores isotópicos del total de individuos, se ordenaron según los requerimientos particulares de cada objetivo (tabla 1).

**Tabla 1.** Número específico de muestras contemplado para cada objetivo del estudio.

Objetivos	Dientes	Cráneos	Capas de crecimiento muestreadas
Objetivo 1. Variación entre Edades	36	-	137 (69 fases de edad muestreadas)
Objetivo 2. Variación Inter e Intra Sexual	9	-	82
Objetivo 3. Variación Intra-anual	6	-	56 (108 subcapas muestreadas)
Objetivo 4. Amplitud y Nivel trófico	35	-	121
Objetivo 5. Variación entre: Tejidos	18	18	36
Edades	-	22	22
Sexos	-	9	9

### 8.2 Determinación de Sexo y Edad

Un total de 22 cráneos y 36 dientes se clasificaron en las distintas categorías de edad y sexo por sitio de recolecta de acuerdo a la metodología antes señalada (Tabla 2 y 3).

Del total de dientes analizados el mayor número de muestras corresponde a crías (n=16), 10 son juveniles, 4 son ♀♀ adultas y 6 son ♂♂ (2 subadultos y 4 adultos), recolectados principalmente en Islas San Benito.

**Tabla 2.** Número de dientes de *Mirounga angustirostris* recolectados en los sitios de estudio.

SITIO	MACHOS	SUBADULTOS	HEMBRAS	JUVENILES	CRÍAS
Islas San Benito	3	1	4	2	16
Isla Magdalena	-	1	-	8	-
Isla Año Nuevo	1	-	-	-	-
TOTAL	4	2	4	10	16

Únicamente se recolectaron cráneos en Islas San Benito y Magdalena, de los cuales se distinguieron 2 crías, 11 juveniles, 2 ♀♀ adultas y 7 ♂♂ (3 subadultos y 4 adultos).

**Tabla 3.** Número de cráneos de *Mirounga angustirostris* recolectados en los sitios de estudio.

SITIO	MACHOS	SUBADULTOS	HEMBRAS	JUVENILES	CRÍAS
Islas San Benito	4	2	2	2	2
Isla Magdalena	-	1	-	9	-
TOTAL	4	3	2	11	2

Los intervalos de edad fueron: en machos adultos entre 8.5 a 16 años, machos subadultos de 5.5 a 7.5 años, hembras adultas entre 5.5 a 10 años y juveniles de 1 y 2 años. En la tabla 4 se muestra la edad estimada de cada individuo a excepción de las crías (< 2 meses) las cuales nacieron en el año 2008.

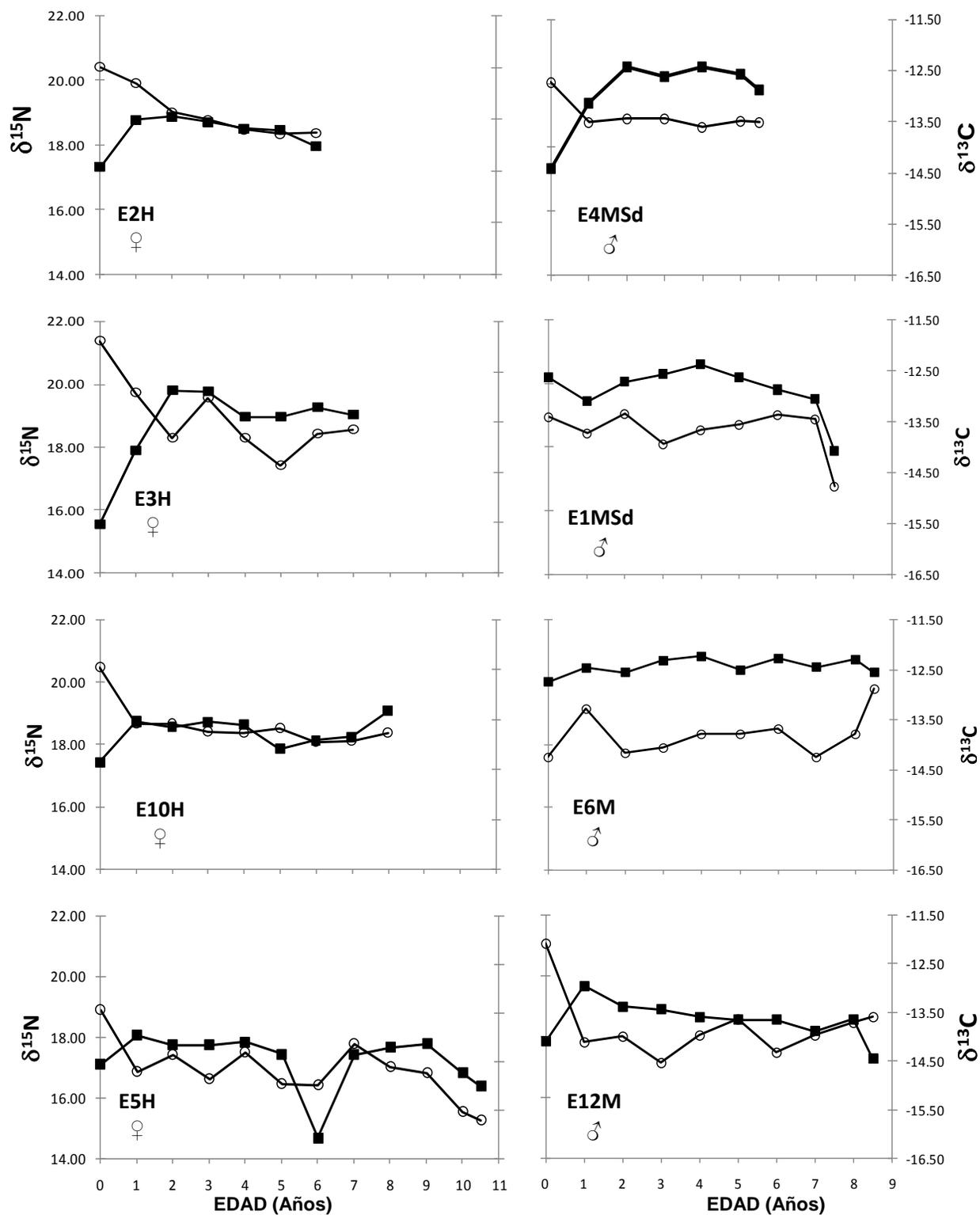
**Tabla 4.** Edad estimada de individuos de *Mirounga angustirostris* recolectados en las Islas San Benito, Magdalena y Año Nuevo durante el periodo 1981-2008.

<b>Código</b>	<b>Fecha de Recolecta</b>	<b>Formación 1era capa</b>	<b>Edad</b>	<b>Localidad</b>
E1MSd	30/09/2004	1997	7.5	Magdalena
E2H	28/06/2007	2002	5.5	San Benito
E3H	29/06/2007	2000	7	San Benito
E4MSd	2000	1994	5.5	San Benito
E5H	15/02/2001	1991	10	San Benito
E6M	2000	1991	8.5	San Benito
E7J	03/2000	1999	1	San Benito
E8J	03/ 2000	1998	2	San Benito
E9J	07/05/2004	2002	2	Magdalena
E10H	21/01/2008	2000	8	San Benito
E11M	03/2000	1994	8.5	San Benito
E12M	05/03/2000	1993	8.5	San Benito
E13M	1981	1967	16	Año Nuevo
E29J	08/04/2008	2007	1	Magdalena
E30J	07/05/2005	2004	1	Magdalena
E31J	18/ 06/ 2004	2004	1	Magdalena
E32J	11/ 05/ 2004	2004	1	Magdalena
E33J	24/07 /2008	2007	1	Magdalena
E34J	25/ 05 /2005	2005	2	Magdalena
E36J	11/04 /2005	2005	1	Magdalena

### 8.3 Análisis de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en colágeno dental

#### 8.3.1 Perfil ontogénico

Se describieron los perfiles isotópicos ontogénicos de 10 elefantes marinos del norte (cuatro ♀♀, seis ♂♂), encontrándose en la mayoría de los casos, fluctuaciones en la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  a lo largo de la vida de los individuos, la cual tendió a incrementarse con la edad; mientras que los valores anuales de  $\delta^{13}\text{C}$  entre cada animal fueron muy estables (Fig. 5).



**Figura. 5.** Perfiles de  $\delta^{15}\text{N}$  (círculos) y  $\delta^{13}\text{C}$  (cuadrados) en ‰ del colágeno dental de ♀♀ y ♂♂ de *Mirounga angustirostris* de +5 años recolectados en Islas San Benito, Magdalena y Año Nuevo. Primer valor corresponde al periodo de lactancia. Sexo y código se advierte en cada espécimen.

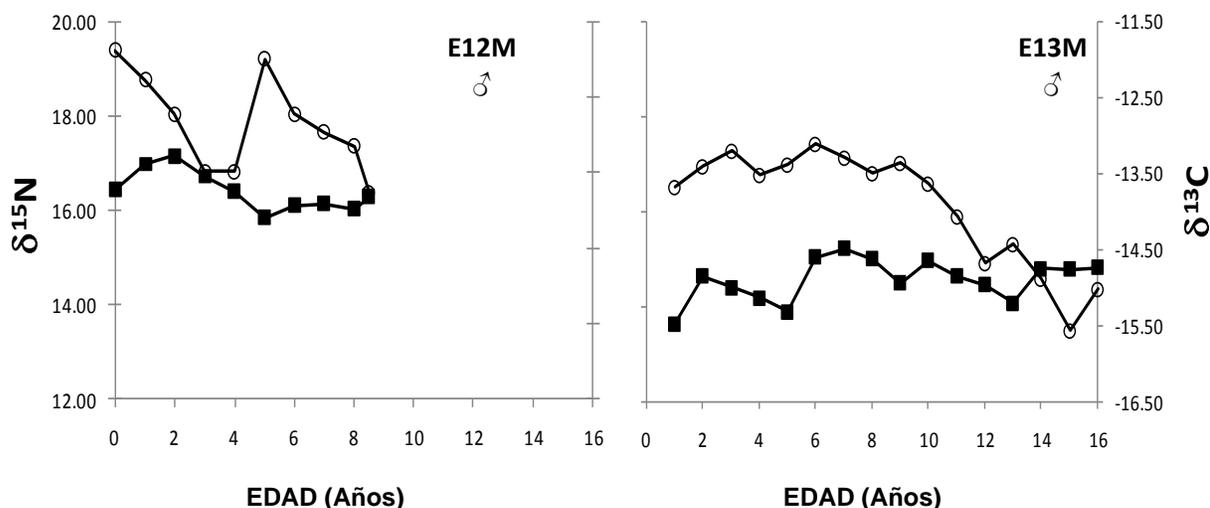


Figura. 5. Continuación

El coeficiente de variación (CV), calculado para las señales isotópicas de nitrógeno y carbono a lo largo de cada perfil de *M. angustirostris* se presenta en la tabla 5. El rango de variación estuvo entre 3.90 y 6.45% en ♀♀ y entre 2.49 y 7.51% en ♂♂ en el caso de  $\delta^{15}\text{N}$ ; y entre 2.32 y 6.39% en ♀♀ y entre 1.29 y 5.42% en ♂♂ para el  $\delta^{13}\text{C}$ .

**Tabla 5.** Coeficiente de variación (CV) de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de los perfiles isotópicos de cuatro ♀♀ y seis ♂♂ de *Mirounga angustirostris* a lo largo de su vida.

CÓDIGO DEL ANIMAL	$\delta^{15}\text{N}$ CV (%)	$\delta^{13}\text{C}$ CV (%)
<b>HEMBRAS</b>		
E2H	4.27	2.54
E3H	6.45	6.39
E5H	5.79	4.01
E10H	3.90	2.32
<b>MACHOS</b>		
E1MSd	3.89	3.89
E4MSd	2.49	5.42
E6M	3.83	1.29
E11M	5.81	1.93
E12M	5.85	2.97
E13M	7.51	1.87

El valor más alto de CV calculado se presentó en el perfil de  $\delta^{15}\text{N}$  del macho adulto de 16 años de Año Nuevo, E13M, (CV = 7.51%). Este animal presentó un comportamiento isotópico distinto a lo esperado (incremento de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  con la edad), al registrarse una fluctuación de la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  del primer y noveno año de vida, seguida de una disminución paulatina con la edad. El  $\delta^{13}\text{C}$  en este perfil presentó un patrón de variación más fluctuante pero menor a 1‰, mientras que las variaciones en  $\delta^{15}\text{N}$  fueron menores a 4‰.

A pesar de las diferencias en los perfiles individuales de *M. angustirostris*, se logró determinar un patrón de historia de vida alimentaria general para la especie, pudiéndose diferenciar características propias de cada sexo.

Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  a lo largo de los años variaron de manera similar en machos y hembras, presentando fluctuaciones menores a 4 ‰ cuando se tomó en consideración la capa de cría (periodo de lactancia); y menores a 3 ‰ a partir de la fase de juvenil. La señal de  $\delta^{15}\text{N}$  tendió a incrementarse a partir del 2do a 3er año de vida en la mayoría de los machos, con un ligero decremento en el 5to y 6to año para luego aumentar en la última fase de vida. En tres animales (un ♂, E6M y dos ♀♀, E2H y E10H), se observó una aparente estabilidad de  $\delta^{15}\text{N}$  desde el 1er año de edad hasta la muerte; mientras que en dos hembras, E3H y E5H, los patrones de  $\delta^{15}\text{N}$  fueron muy fluctuantes.

Ambos sexos mostraron una variación interanual similar en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (CV promedio = 5.10% en ♀♀ y 4.90% en ♂♂); sin embargo, al considerar únicamente los valores isotópicos correspondientes a la fase adulta de los animales, fueron los machos los que presentaron mayor variación en sus perfiles ontogénicos (CV promedio = 2.39% en ♀♀ y 4.48% en ♂♂).

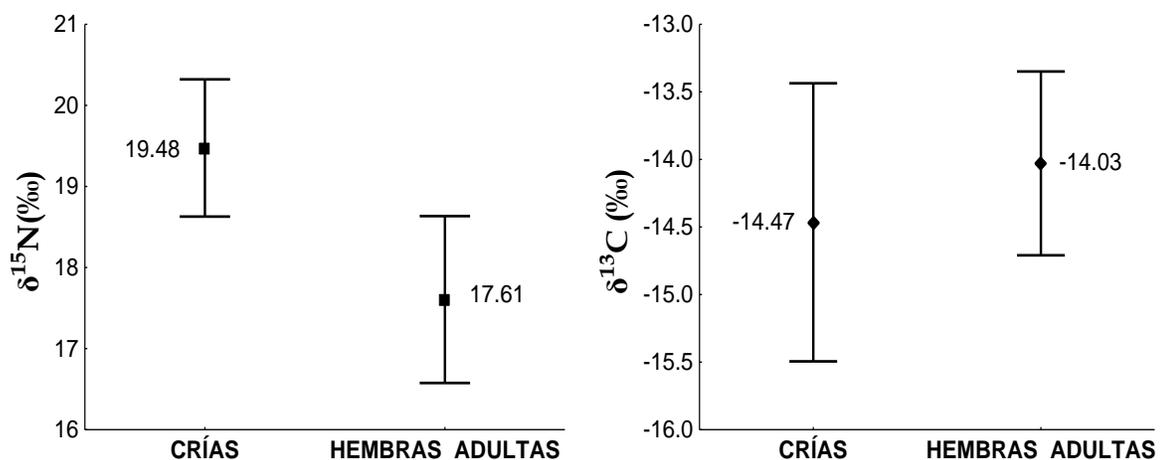
La principal variación de  $\delta^{15}\text{N}$  se presentó entre la primera y subsecuente capa de dentina (capa 0 y capa 1; correspondientes a la fase de cría y juvenil respectivamente). La primera capa presentó valores entre 0.5 y 3.24‰ más altos que la subsecuente, siendo esta diferencia entre las capas de dentina más notoria en

hembras que en machos (diferencias presentes en las 4 ♀♀ y en 3 de los 5 ♂♂ muestreados).

La señal de  $\delta^{13}\text{C}$  permaneció casi estable durante toda la ontogenia de los individuos en la mayoría de casos analizados, no variando más allá de 1 a 2 ‰ a lo largo de su vida. De manera general, los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  fueron más variables en las hembras que en los machos (CV promedio = 3.81 % en ♀♀ y 2.89 % en ♂♂), sin embargo, en la fase adulta esta diferencia disminuyó (CV promedio = 2.20 % en ♀♀ y 2.06 % en ♂♂). En los machos fue notable el incremento de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  del 1er al 2do año de edad, con un caso que incluyó hasta el 4to año, mostrando una tendencia a estabilizarse o disminuir ligeramente durante el resto de su vida.

### Fraccionamiento isotópico

A partir del valor promedio y desviación estándar de todas las crías (n = 35), ( $\delta^{15}\text{N} = 19.48 \pm 0.84\text{‰}$  y  $\delta^{13}\text{C} = -14.47 \pm 1.02\text{‰}$ ), y el promedio de las distintas capas de dentina correspondientes a la fase adulta de las hembras (n=4), (promedio ♀♀ adultas:  $\delta^{15}\text{N} = 17.61 \pm 1.02\text{‰}$  y  $\delta^{13}\text{C} = -14.03 \pm 0.68\text{‰}$ ) de San Benito e Isla Magdalena; se calculó el enriquecimiento isotópico entre la fase cría y la fase de hembra adulta, que resultó en 1.87‰ para  $\delta^{15}\text{N}$  y de -0.44‰ para  $\delta^{13}\text{C}$  (Fig. 6).



**Figura 6.** Valores de fraccionamiento isotópico ( $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ ) entre la fase cría y la fase de hembra adulta de *Mirounga angustirostris*.

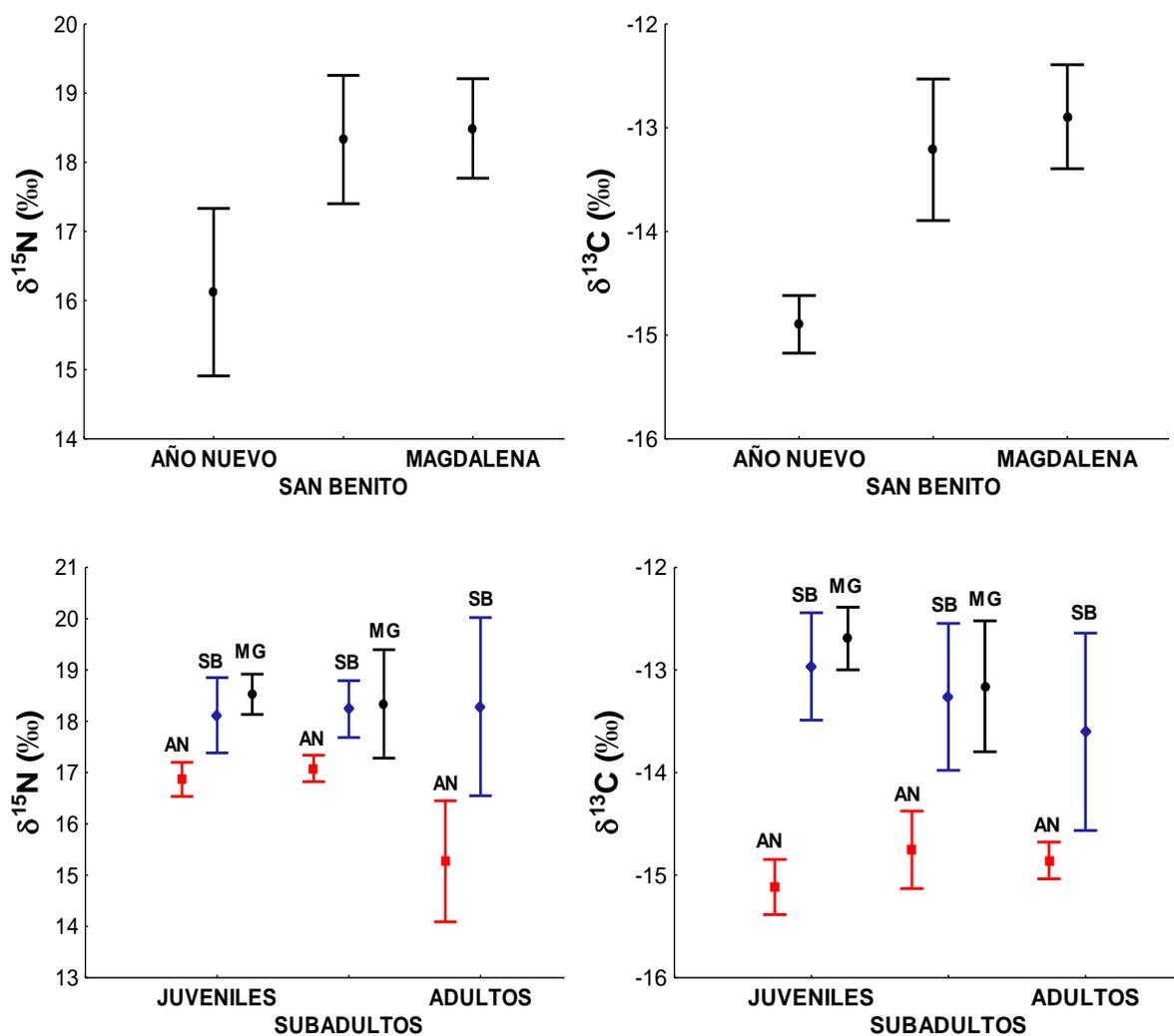
### 8.3.2 Diferencias isotópicas entre sitios de estudio

A partir del conocimiento previo sobre el efecto latitudinal en los isótopos de N y C, el cual determina que los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  disminuyen con el aumento de la latitud, se compararon las señales isotópicas de los machos adultos entre las Islas San Benito (SB), Isla Magdalena (MG) y Año Nuevo (AN), toda vez que fueron la única categoría en común presente en los tres sitios. A pesar que el análisis comparativo entre sitios no fue un objetivo del estudio, se desarrolló, para determinar la posible discriminación de datos en los posteriores análisis comparativos entre clases de edad y sexo.

La prueba de Kruskal Wallis sugirió diferencias en la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  entre los sitios confrontados ( $H=29.88$ , g.l.=2,  $P<0.001$ ), siendo diferente Año Nuevo de San Benito y Magdalena. También se encontraron dichas diferencias entre los sitios, al agruparse los datos por clase de edad específica. Juveniles ( $H= 8.40$ , g.l.= 2,  $P<0.01$ ), subadultos ( $H= 7.24$ , g.l.= 2,  $P<0.05$ ) y adultos ( $H= 4.16$ , g.l.= 1,  $P<0.04$ ). En todas las comparaciones realizadas, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de San Benito no se distinguieron estadísticamente de Isla Magdalena, localidad que presentó los valores más altos de  $\delta^{15}\text{N}$  de entre los tres sitios.

El valor de  $\delta^{15}\text{N}$  (promedio  $\pm$  desviación estándar) calculado para la localidad de Magdalena es  $18.49 \pm 0.72\text{‰}$ , para San Benito es  $18.33 \pm 0.93\text{‰}$  y para Año Nuevo es  $16.12 \pm 1.21\text{‰}$  (Fig. 7).

Con respecto al  $\delta^{13}\text{C}$ , los valores de los tres sitios fueron diferentes ( $F= 54.60$ ,  $P<< 0.001$ ); como también lo fueron al agruparse por clase de edad: juveniles ( $F=37.47$ ,  $P<< 0.0001$ ), subadultos ( $F= 8.61$ ,  $P<0.002$ ) y adultos ( $F= 14.83$ ,  $P<0.003$ ). La prueba de Tukey aplicada a esta variable, corroboró que únicamente los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de Año Nuevo son diferentes a los de San Benito y Magdalena (Tukey =  $P< 0.001$ ). El valor de  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  desviación estándar) correspondiente a la localidad de Magdalena es  $-12.89 \pm 0.5\text{‰}$ , en San Benito es  $-13.21 \pm 0.68\text{‰}$ , mientras que en Año Nuevo es  $-14.90 \pm 0.28\text{‰}$  (Fig. 7).



**Figura 7.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  DS en ‰) del colágeno dental de machos adultos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Año Nuevo (AN), Magdalena (MG) y San Benito (SB). Los dos gráficos de arriba muestran los valores agrupados por sitio, mientras que en los dos siguientes, los valores están agrupados por clase de edad específica en cada sitio.

### 8.3.3 Variaciones isotópicas entre categorías de edad

Se analizaron los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno dental de 121 capas de dentina procedentes de 35 individuos de *M. angustirostris*, recolectados en Islas San Benito y Magdalena. Los datos correspondientes a las capas de crecimiento de cada animal fueron ordenados por clase de edad y sexo (crías, juveniles, machos

subadultos, hembras adultas y machos adultos), obteniendo un total de 66 fases muestreadas (Tabla 6).

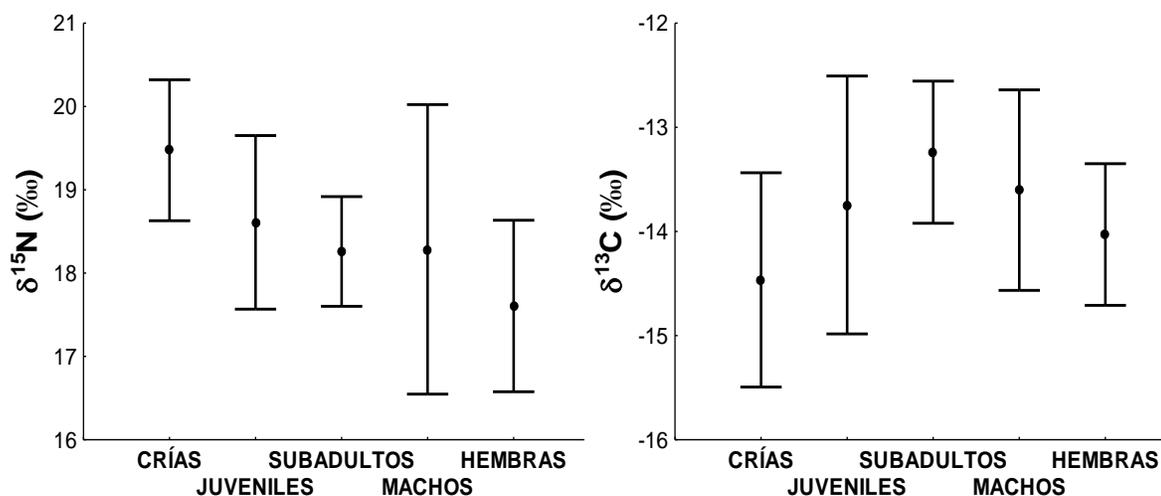
**Tabla 6.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno dental de 35 caninos de *Mirounga angustirostris* de Islas San Benito y Magdalena. Se presenta el número total de muestras isotópicas por clase de edad y el número total de fases de edad monitoreadas.

CLASE DE EDAD/ SEXO	N° DE FASES MONITOREADAS	N° DE MUESTRAS ISOTÓPICAS	$\delta^{15}\text{N}$ (‰) (Media $\pm$ DE)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) (Media $\pm$ DE)
Cría	35	35	19.48 $\pm$ 0.84	-14.47 $\pm$ 1.02
Juvenil	19	45	18.61 $\pm$ 1.04	-13.75 $\pm$ 1.23
Hembra Adulta	4	20	17.61 $\pm$ 1.02	-14.03 $\pm$ 0.68
Macho Subadulto	5	18	18.26 $\pm$ 0.65	-13.24 $\pm$ 0.68
Macho Adulto	3	3	18.29 $\pm$ 1.73	-13.60 $\pm$ 0.96

El análisis en conjunto de datos de San Benito y Magdalena, se hizo posible debido a que se demostró que no existen diferencias estadísticas en los valores isotópicos entre estos sitios.

Los análisis comparativos entre las clases de edad, mostraron que las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  fueron estadísticamente significativas ( $F = 13.404$ ,  $P < 0.001$  y  $F = 4.9123$ ,  $P < 0.001$  respectivamente), presentando las crías valores más altos (enriquecidos) en  $\delta^{15}\text{N}$  y bajos (disminuidos) en  $\delta^{13}\text{C}$  en comparación con las demás categorías de edad (Fig.8).

La prueba *posteriori* de Tukey determinó, en el caso de  $\delta^{15}\text{N}$ , que el grupo de las crías fue distinto de los juveniles, hembras adultas y machos subadultos, así como también lo fueron, los juveniles de las hembras adultas (Tabla 7).



**Figura 8.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  DS en ‰) del colágeno dental de 35 individuos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena, agrupados por clase de edad específica.

**Tabla 7.** Diferencias en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de individuos de distintas categorías de edad, (prueba de Tukey). Grupos de edad diferentes ( $P < 0.05$ ) marcados con rojo.

CATEGORÍA DE EDAD	CRÍAS	JUVENILES	HEMBRAS	SUBADULTOS	MACHOS
CRÍAS		0.001049	0.000114	0.000338	0.238987
JUVENILES			0.001546	0.683413	0.979232
HEMBRAS				0.222942	0.779480
SUBADULTOS					0.999999

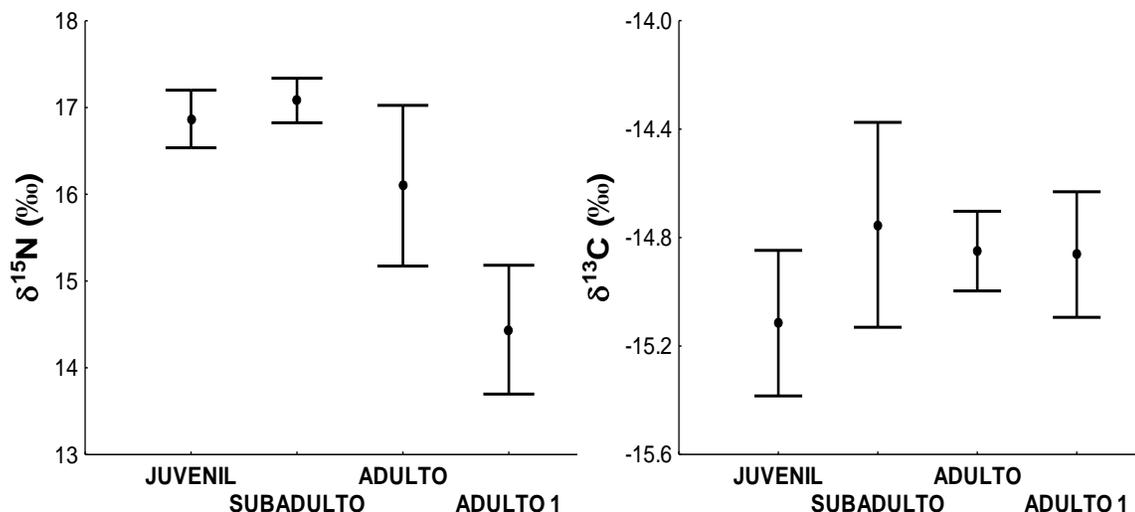
En  $\delta^{13}\text{C}$  fueron distintos los juveniles y los ♂♂ subadultos de las crías (Tabla 8).

**Tabla 8.** Diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de individuos de distintas categorías de edad, (prueba de Tukey). Grupos de edad diferentes ( $P < 0.05$ ) marcados con rojo.

CATEGORÍA DE EDAD	CRÍAS	JUVENILES	HEMBRAS	SUBADULTOS	MACHOS
CRÍAS		0.019450	0.554054	0.000766	0.630623
JUVENILES			0.841294	0.395011	0.999403
HEMBRAS				0.130396	0.962254
SUBADULTOS					0.979267

Al compararse los valores isotópicos de juveniles machos (n=33) y hembras (n=11), resultaron estadísticamente diferentes en  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F= 8.75$ ,  $P< 0.05$ ) y en  $\delta^{13}\text{C}$  ( $F= 51.16$ ,  $P<< 0.001$ ). Los valores isotópicos promedios calculados en juveniles machos son:  $\delta^{15}\text{N}= 18.35 \pm 0.87\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C}= -13.20 \pm 0.59\text{‰}$  y en juveniles hembras son:  $\delta^{15}\text{N}= 19.31 \pm 1.19\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C}= -15.24 \pm 1.34\text{‰}$ .

La muestra de Año Nuevo (n=1) correspondiente a un macho adulto de edad avanzada (E13M), permitió comparar de mejor manera la edad temprana del individuo con la fase adulta, la cual se diferenció en dos sub-fases: ADULTO, de 9 a 12 años (individuos reproductivos) y ADULTO 1, de 13 a 16 años (Fig.9).



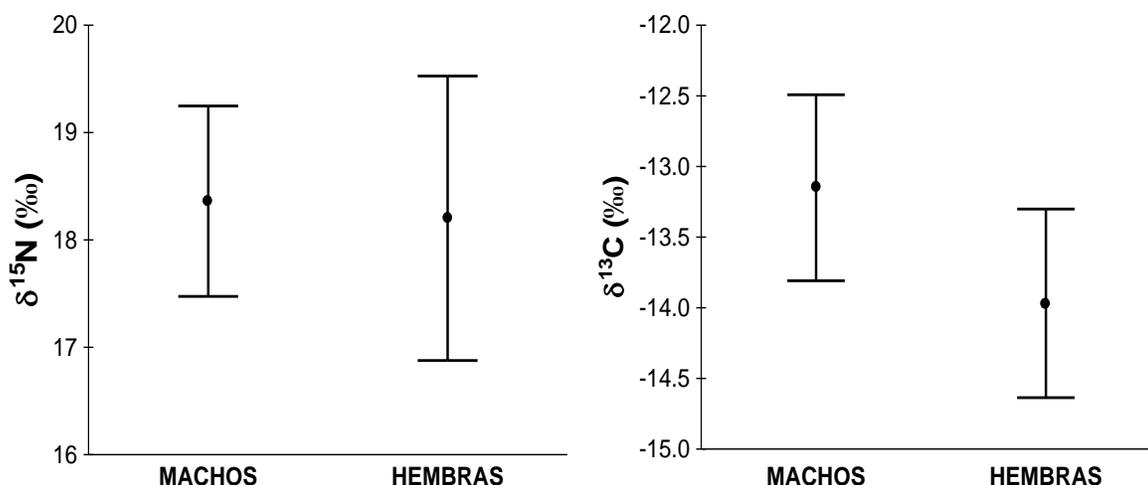
**Figura 9.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  DS en ‰) del colágeno dental del macho adulto de *Mirounga angustirostris* recolectado en Isla Año Nuevo, agrupados por clase de edad.

La prueba de Kruskal Wallis aplicada a los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  mostró diferencias estadísticas entre las clases de edad ( $H= 10.21$ , g.l.= 3,  $P< 0.05$ ); siendo diferentes los subadultos de los adultos 1 (prueba de comparaciones múltiples entre medianas:  $P<0.05$ ). Mientras que en  $\delta^{13}\text{C}$ , no se encontraron diferencias estadísticas entre las categorías de edad confrontadas ( $H = 4.39$ , g.l.= 3,  $P> 0.05$ ).

### 8.3.4 Variaciones isotópicas entre sexos

Se compararon las señales isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de cinco ♂♂ y cuatro ♀♀ (46 y 36 capas de crecimiento muestreadas en cada sexo respectivamente) recolectados en Islas San Benito y Magdalena. El análisis de varianza, no encontró diferencia estadística en  $\delta^{15}\text{N}$  entre sexos ( $F= 0.4212$ ,  $P> 0.05$ ), pero sí en  $\delta^{13}\text{C}$ , en donde la diferencia fue altamente significativa ( $F= 30.812$ ,  $P<< 0.001$ ).

Los valores isotópicos promedio  $\pm$  desviación estándar (DS) para machos son:  $\delta^{15}\text{N}= 18.36 \pm 0.88\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C}= -13.15 \pm 0.65\text{‰}$ ; y para hembras son:  $\delta^{15}\text{N}= 18.20 \pm 1.32\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C}= -13.96 \pm 0.66\text{‰}$ . (Fig. 10).

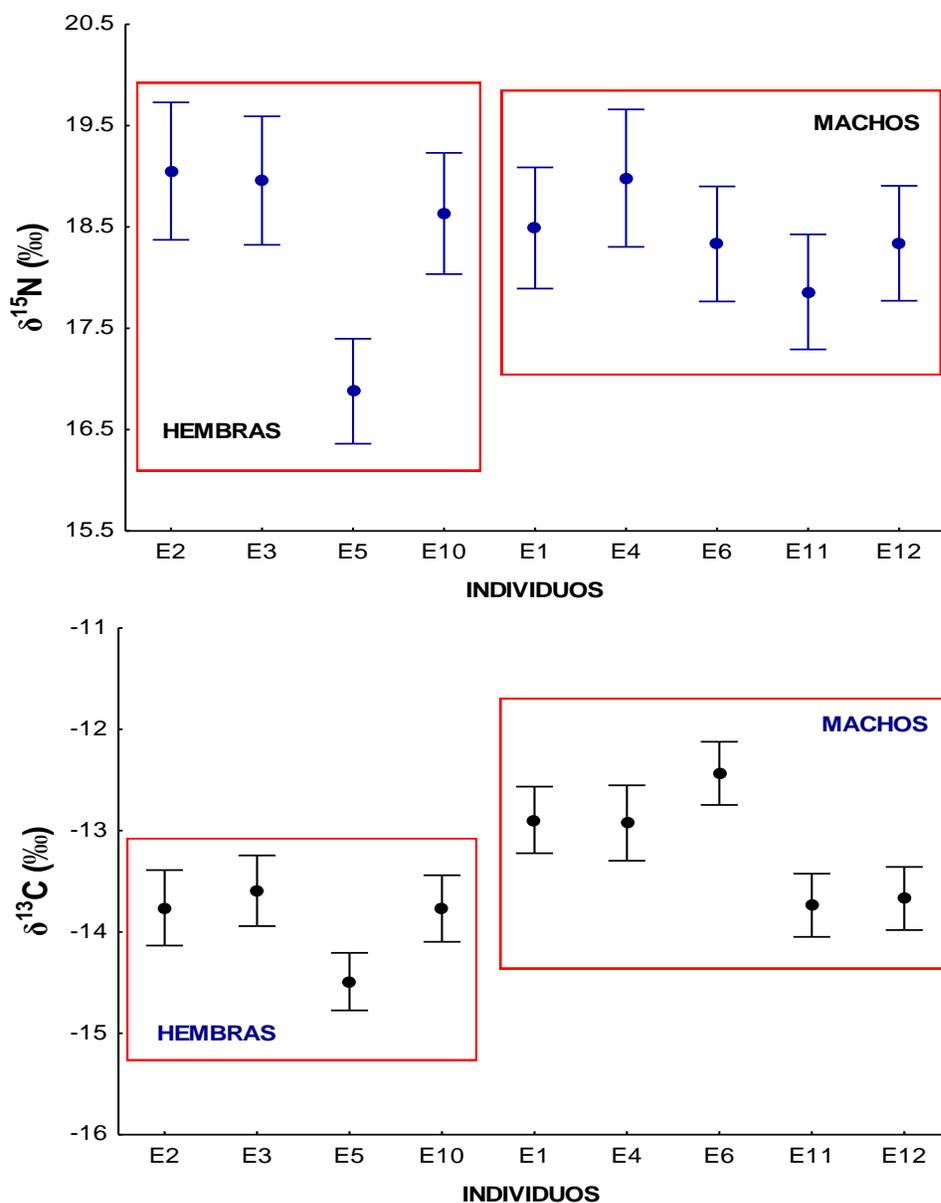


**Figura 10.** Valores (promedio  $\pm$  DS en ‰) de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno dental de cinco ♂♂ y cuatro ♀♀ de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena.

### 8.3.5 Variaciones isotópicas intra-sexuales.

Debido a la variabilidad observada entre los perfiles isotópicos de animales de un mismo sexo, se compararon las señales individuales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de cuatro hembras y cinco machos de *M. angustirostris* (36 y 46 capas de crecimiento muestreadas en cada sexo respectivamente) recolectados en Islas San Benito y Magdalena, para determinar posibles diferencias estadísticas entre individuos de un mismo sexo.

Los análisis comparativos entre hembras, mostraron que las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  fueron estadísticamente significativas ( $F= 11.81$ ,  $P< 0.001$  y  $F= 5.10$ ,  $P< 0.001$  respectivamente). En el caso de los machos, se encontraron únicamente diferencias estadísticas en  $\delta^{13}\text{C}$  ( $F= 17.13$ ,  $P< 0.001$ ), aunque en  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F= 1.83$ ,  $P> 0.05$ ) los datos mostraron una tendencia a ser distintos entre individuos (Fig. 11).



**Figura 11.** Valores individuales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  0.95 intervalo de confianza en ‰) del colágeno dental de cuatro ♀♀ y cinco ♂♂ de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena.

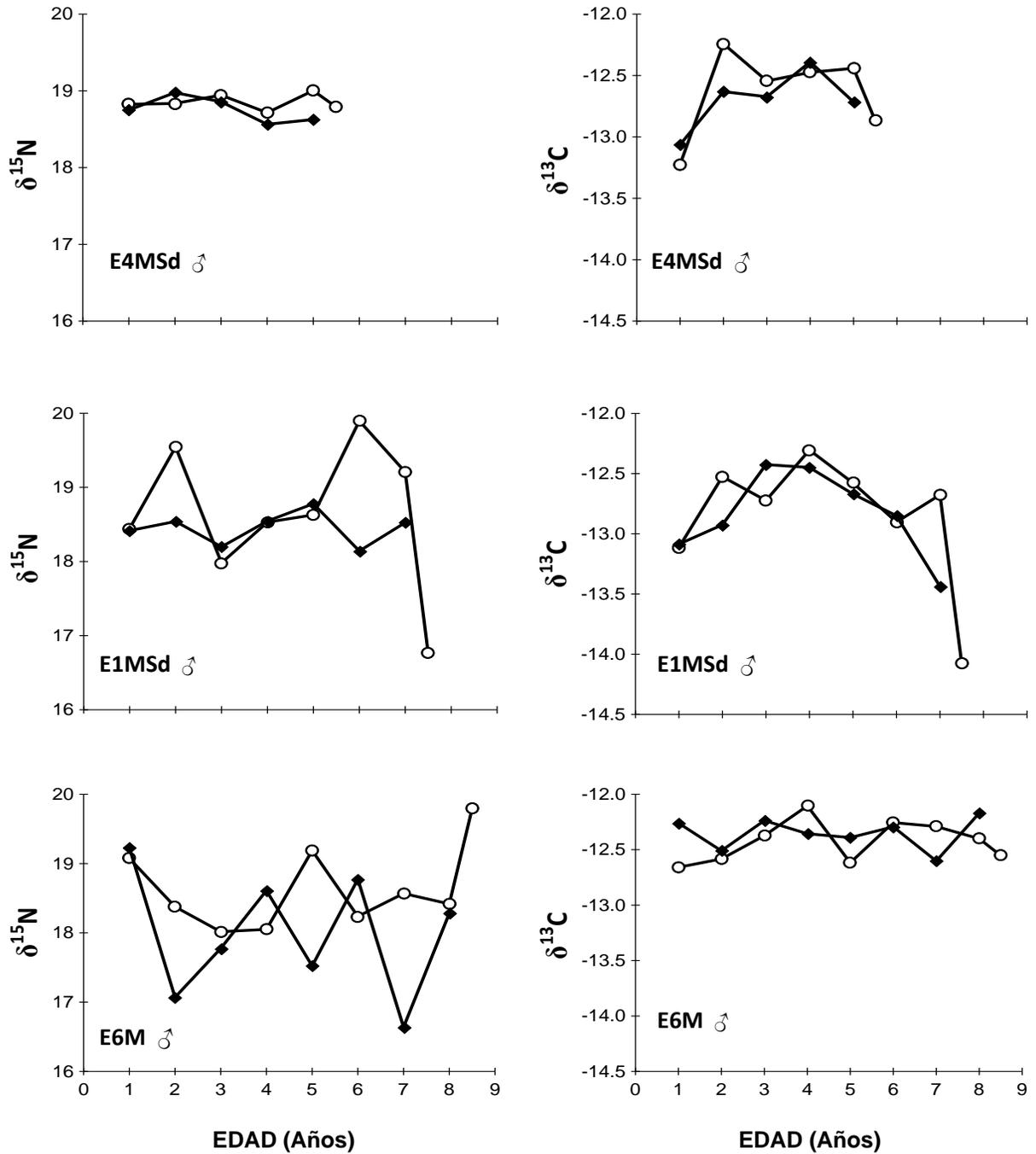
### 8.3.6 Variaciones isotópicas intra-anales

#### 8.3.6.1 Perfil ontogénico semestral

Con la finalidad de detectar la influencia del estrés nutricional al que se ven expuestos los elefantes marinos del norte durante su periodo reproductivo de abstinencia alimentaria (incremento de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  durante el periodo de formación de la banda hipomineralizada de dentina), se describieron los perfiles isotópicos intra-anales de seis ♂♂, en los que se analizaron los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  correspondientes a los periodos de formación de las bandas hipermineralizadas (primer periodo del año) e hipomineralizadas (segundo periodo del año) durante la ontogenia de los individuos. La mayoría de los animales analizados, corresponden a edad inferior a los 9 años, por lo que las variaciones intra-anales durante la fase adulta, se monitorearon ampliamente en el ♂ adulto de 16 años de edad (E13M) recolectado en Isla Año Nuevo.

Los perfiles isotópicos descritos, presentan en la mayoría de los casos, fluctuaciones en la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en ambos periodos comparados. En casi todos los años analizados, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en el primer periodo son más altos que en el segundo; sin embargo, en ocasiones ocurre lo contrario o las diferencias entre periodos son mínimas, por lo que no fue posible establecer un patrón general que indique el efecto del estrés nutricional en la especie en las distintas fases de edad de los individuos, (Fig. 12).

De manera general, se registró mayor variación intra-anual en  $\delta^{15}\text{N}$  (CV promedio = 4.42%) que en  $\delta^{13}\text{C}$  (CV promedio = 1.27%); y principalmente en el primer periodo del año (CV promedio = 3.73% en  $\delta^{15}\text{N}$ ; y CV promedio = 1.12% en  $\delta^{13}\text{C}$ ) durante la fase temprana de vida de los individuos (< 9 años). En la tabla 9 se muestran los CV's calculados para los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  a lo largo de cada perfil intra-anual de machos de *M. angustirostris*.



**Figura 12.** Perfiles de valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (izquierda) y  $\delta^{13}\text{C}$  (derecha) del colágeno dental de seis ♂♂ de *Mirounga angustirostris* de +5 años correspondientes al primer periodo (círculos) y segundo periodo (diamantes) del año. Valores reportados en ‰. Animales recolectados en Islas San Benito, Magdalena y Año Nuevo. Código de identificación se advierte en cada espécimen.

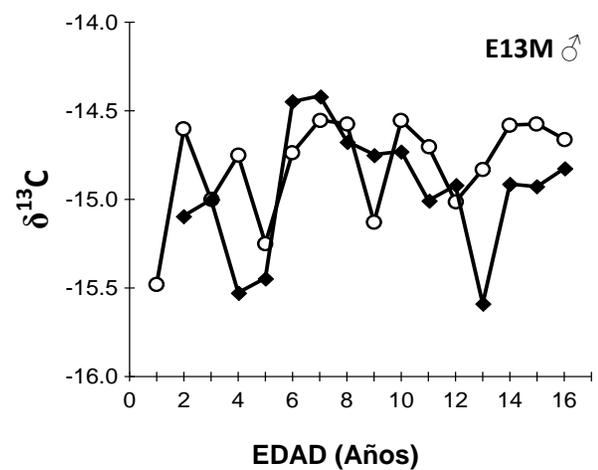
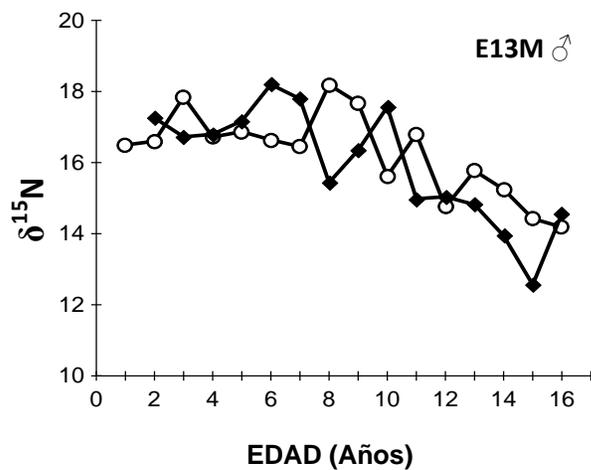
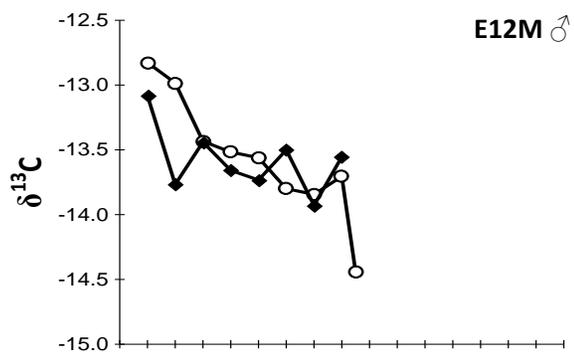
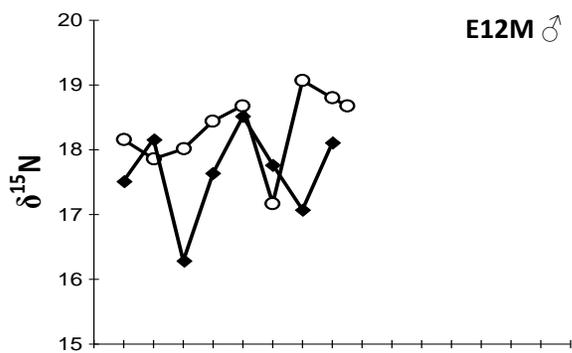
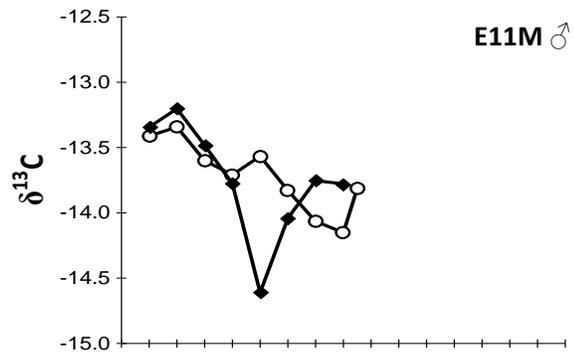
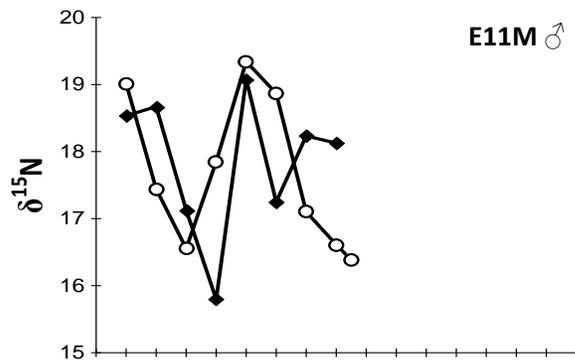


Figura 12. Continuación

**Tabla 9.** Coeficiente de variación (CV) de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  calculado en los perfiles isotópicos intra-anales de seis ♂♂ de *Mirounga angustirostris* descritos en este estudio.

CÓDIGO DEL ANIMAL	EDAD	$\delta^{15}\text{N} - \text{CV} (\%)$		$\delta^{13}\text{C} - \text{CV} (\%)$	
		PERIODO 1	PERIODO 2	PERIODO 1	PERIODO 2
E1MSd	7.5	5.26	1.19	4.26	2.81
E4MSd	5.5	0.55	0.89	-2.80	-1.90
E6M	8.5	3.20	4.95	-1.52	-1.17
E11M	8.5	6.47	5.98	-2.00	-3.21
E12M	8.5	3.18	3.98	-3.52	-1.89
E13M	16	7.29	10.12	-1.91	-2.35

El rango de variación en  $\delta^{15}\text{N}$  estuvo entre 0.55 y 7.59% en el primer periodo y entre 0.89 y 10.12% en el segundo periodo; mientras que en  $\delta^{13}\text{C}$ , la señal varió entre 1.52 y 4.26% en el primer periodo y entre 1.17 y 3.21% en el segundo periodo. El valor más alto de CV calculado se presentó en el perfil de  $\delta^{15}\text{N}$  de E13M del segundo periodo (CV = 10.12%); debido probablemente a que durante la fase adulta se presenta la mayor variación intra-anual.

Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de los dos periodos, variaron de manera inversa a lo largo de los años en casi todos los perfiles, mostrando el primer periodo valores más altos que el segundo y principalmente durante la fase de subadulto y adulto de los animales. La diferencia máxima entre el 1ero y 2do periodo es 2.75‰ y entre el 2do y 1er periodo es 1.95‰, ocurrido a los 8 y 10 años de edad respectivamente.

La señal de  $\delta^{15}\text{N}$  en el primer periodo, tiende a incrementarse de la fase de juvenil a subadulto (en 3 de los 6 ♂♂), especialmente del 1er al 3er año de vida y es más fluctuante durante los años de subadulto y adulto. El individuo E13M muestra fluctuaciones amplias a partir de los 8 hasta los 13 años, seguido de un decremento paulatino hasta los 16 años. En el segundo periodo, se presentan decrementos conspicuos de  $\delta^{15}\text{N}$  durante la fase juvenil (en 4 de los 6 ♂♂) y fluctuaciones durante

su etapa de subadulto. La señal se incrementa en la primera fase de vida adulta, hasta los 10 años y disminuye progresivamente hasta su muerte.

En el caso del  $\delta^{13}\text{C}$  se presentó un patrón similar al de  $\delta^{15}\text{N}$  en los dos periodos, variando de manera contraria a lo largo de los años y mostrando valores más altos en el primero que en el segundo periodo principalmente durante la fase de juvenil y subadulto. La máxima diferencia fue 0.96‰ entre el 1er y 2do periodo y de 0.39‰ entre el 2do y 1er periodo, a los 7 y 9 años de edad respectivamente.

La señal de  $\delta^{13}\text{C}$  mostró un patrón similar en el primer y segundo periodo, mostrando un incremento de los valores del 1er al 4to año de vida durante la etapa juvenil de los animales, seguida de una estabilidad o disminución paulatina durante la fase de subadulto. En el ejemplar E13M, la señal de  $\delta^{13}\text{C}$  es muy fluctuante durante la etapa de subadulto y tiende a incrementarse en el 1er periodo y a disminuir en el 2do periodo durante los primeros años de vida adulta, correspondientes a su etapa reproductiva (hasta los 12 o 13 años), para luego estabilizarse la señal de  $\delta^{13}\text{C}$  en los últimos 3 años de vida de animal (de los 14 a 16 años de edad).

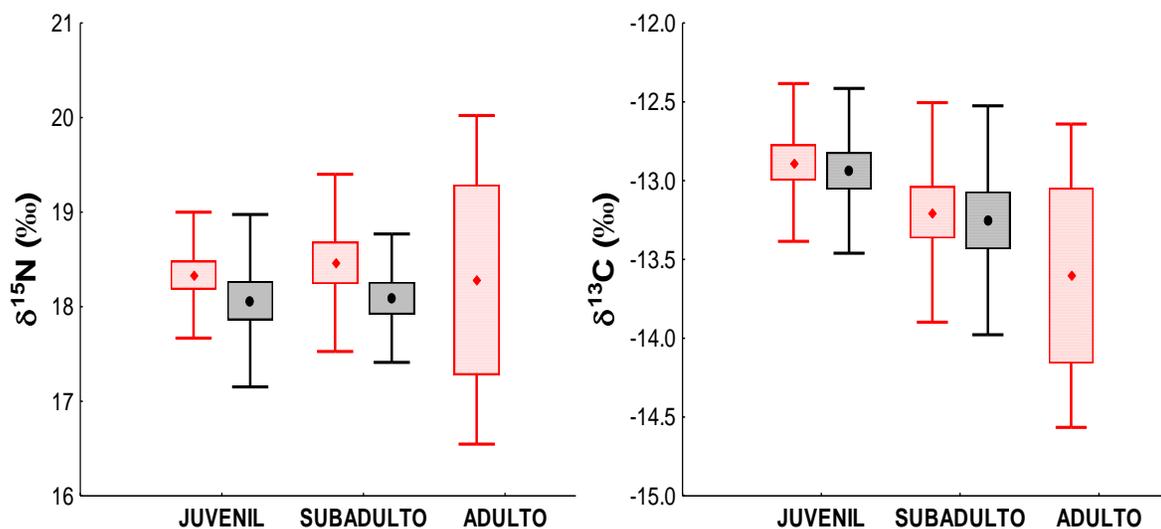
### **8.3.6.2 Análisis comparativo de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre periodos**

Se analizaron los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de 56 capas de dentina (dos muestras por cada capa de crecimiento) correspondientes a seis ♂♂ de *M. angustirostris* recolectados en las localidades de San Benito, Magdalena y Año Nuevo. Los datos correspondientes a las capas de crecimiento de cada animal fueron ordenados por periodo del año, (banda clara = periodo 1; banda oscura = periodo 2) obteniendo un total de 108 subcapas muestreadas. Debido a que no se encontraron diferencias estadísticas en las señales isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre Islas San Benito y Magdalena, estos sitios se analizaron de forma conjunta, mientras que Año Nuevo se analizó por separado.

## San Benito – Magdalena

Se compararon las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre los periodos del año y no fueron estadísticamente diferentes ( $t = 1.63$ , g.l. = 75,  $P > 0.10$  y  $t = 0.006$ , g.l. = 75,  $P > 0.5$ , respectivamente), como tampoco lo fueron al agruparse por clase de edad específica: Juveniles ( $t = 1.06$ , g.l. = 38,  $P > 0.05$  para  $\delta^{15}\text{N}$  y  $t = 0.32$ , g.l. = 38,  $P > 0.05$  para  $\delta^{13}\text{C}$ ) y subadultos ( $t = 1.31$ , g.l. = 32,  $P > 0.1$  para  $\delta^{15}\text{N}$  y  $t = 0.20$ , g.l. = 32,  $P > 0.1$  para  $\delta^{13}\text{C}$ ), (Fig. 13).

La clase adulta, agrupó únicamente valores correspondientes al primer periodo del año por lo que no fue posible analizar las variaciones intra-anales dentro de esta categoría de edad.

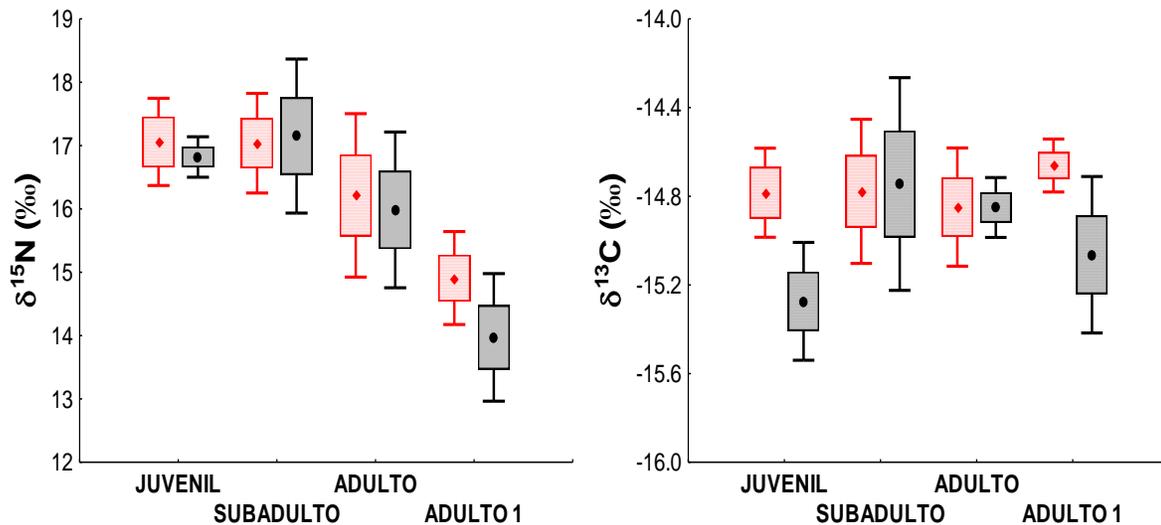


**Figura 13.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  error estándar (caja) y desviación estándar (línea) en ‰) del colágeno dental de cinco ♂♂ de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena. En rojo se indican los valores correspondientes al primer periodo y en negro, al segundo periodo del año.

## Año Nuevo

Se compararon los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre los periodos del año y no fueron diferentes ( $U = 112$ ,  $P > 0.5$  para  $\delta^{15}\text{N}$  y  $t = 1.96$ , g.l. = 29,  $P > 0.05$  para  $\delta^{13}\text{C}$ ).

Al agruparse los datos por categoría de edad, únicamente se encontraron diferencias estadísticas en  $\delta^{13}\text{C}$  en la clase de edad de los juveniles ( $t = 2.64$ , g.l.=5,  $P < 0.05$ ), (Fig. 14).



**Figura 14.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  error estándar (caja) y desviación estándar (línea) en ‰) del colágeno dental de un ♂ de *Mirounga angustirostris* recolectado en Isla Año Nuevo. En rojo se indican los valores correspondientes al primer periodo y en negro, al segundo periodo del año.

En los subadultos y adultos, no se encontraron diferencias significativas en  $\delta^{15}\text{N}$  ni en  $\delta^{13}\text{C}$  entre los periodos del año ( $P > 0.05$ ). En la clase adulta se distinguió dos grupos: ADULTO, de 9 a 12 años y ADULTO 1, de 13 a 16 años. Al analizar de manera específica los valores del primer periodo del año entre los grupos, no se encontraron diferencias estadísticas en  $\delta^{15}\text{N}$  ( $U = 3$ ,  $P > 0.05$ ) ni en  $\delta^{13}\text{C}$  ( $t = -2.10$ , g.l.= 6,  $P > 0.05$ ); mientras que al comparar los valores del segundo periodo del año entre los grupos, se encontraron diferencias en  $\delta^{15}\text{N}$  ( $U = 0$ ,  $P < 0.05$ ) pero no en  $\delta^{13}\text{C}$  ( $t = 1.12$ , g.l.= 6,  $P > 0.05$ ).

### 8.3.7 Nivel Trófico

El valor promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  de *M. angustirostris* utilizado para estimar el nivel trófico fue 18.63‰, calculado a partir de animales recolectados en Islas San Benito y Magdalena. Los organismos base y sus valores de  $\delta^{15}\text{N}$  utilizados en cada algoritmo fueron: en el caso de la ecuación de Vander-Zanden *et al.*, (1997), el copépodo *Calanus pacificus* ( $\delta^{15}\text{N} = 9.9\text{‰}$ ), valor promedio a partir de 51 años en la costa central de California, Bahía de Monterrey (tomado de Rau *et al.*, 2003); y en el caso del algoritmo de Post (2002), el valor de la materia orgánica particulada ( $\delta^{15}\text{N} = 7.8\text{‰}$ ), media ponderada a partir de trampas de sedimento quincenales a lo largo de 3.25 años en Bahía de Monterrey (tomado de Altabet *et al.*, 1999).

El nivel trófico estimado para *M. angustirostris* según el algoritmo de Vander-Zanden *et al.*, (1997) fue 4.6 y según Post (2002) fue 4.2, calificándolo ambas aproximaciones como un carnívoro secundario terciario.

### 8.3.8 Amplitud trófica

La varianza calculada para el total de datos ( $n=35$ ), a partir del valor promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de cada individuo fue:  $\sigma^2 = 0.9\text{‰}$  en ambos isótopos; es así que de acuerdo al criterio propuesto por Bearhop *et al.* 2004, de manera general, *M. angustirostris* es considerado un depredador de tipo especialista, en términos isotópicos ( $\sigma^2 < 1\text{‰}$ ).

Al analizar de manera puntual cada fase de edad en los individuos, la varianza calculada para el grupo de datos correspondientes a la fase de cría ( $n=35$ ) es 0.7‰ para  $\delta^{15}\text{N}$  y 1.1‰ en  $\delta^{13}\text{C}$ , considerando a la especie durante esta primera etapa de vida, como un depredador de tipo especialista.

En la fase juvenil ( $n=19$ ), la varianza es 1.3 ‰ para  $\delta^{15}\text{N}$  y 2.2‰ para  $\delta^{13}\text{C}$ , calculado a partir del valor promedio de cada animal, categorizando al elefante marino del norte como un depredador generalista ( $\sigma^2 < 1\text{‰}$ ) durante su etapa juvenil. Sin embargo, al discriminar los sexos y analizar tres valores por cada animal durante

su fase juvenil, el tamaño de la varianza en hembras (n=12), es 1.1‰ en  $\delta^{15}\text{N}$  y 0.2‰ en  $\delta^{13}\text{C}$ , considerado generalista, pero alimentándose en un solo ambiente; mientras que en los machos (n=15) la varianza calculada en  $\delta^{15}\text{N}$  es 0.5‰ y en  $\delta^{13}\text{C}$  es 0.2‰, considerado depredador especialista.

El tamaño de la varianza, en la fase subadulta (n=5) de *M. angustirostris* es muy pequeño en ambos isótopos, 0.1‰ para  $\delta^{15}\text{N}$  y 0.4‰ para  $\delta^{13}\text{C}$ , categorizándolo como un depredador altamente especialista.

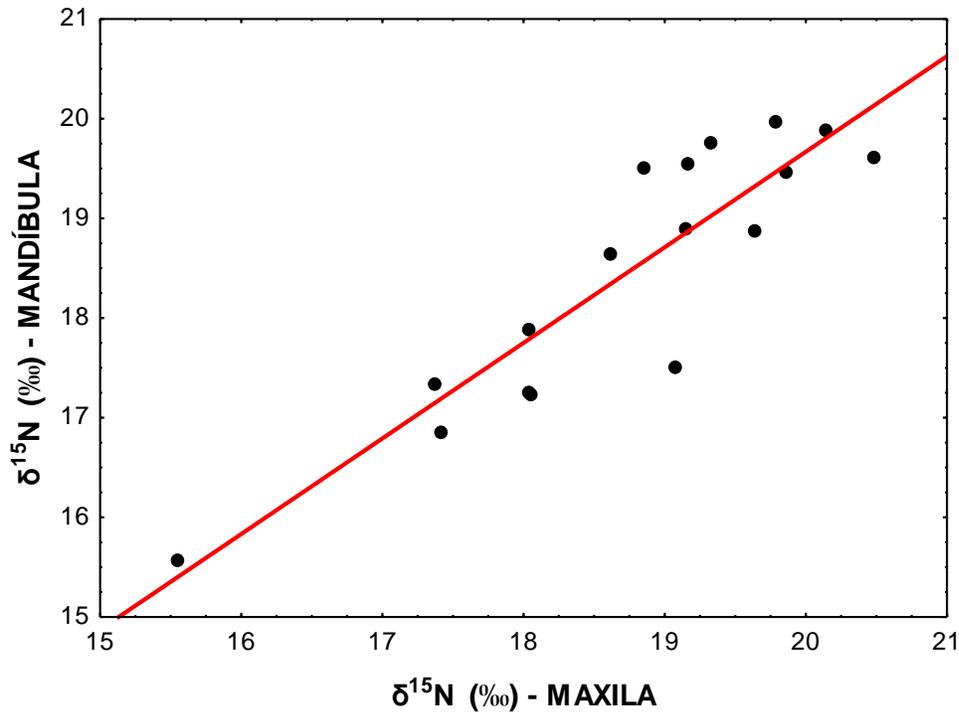
En la fase adulta, las hembras (n=4) presentaron tamaños de varianza pequeños (0.7 y 0.3‰ para  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  respectivamente) siendo consideradas especialistas; mientras que en los machos (n=3), la varianza calculada es 3‰ en  $\delta^{15}\text{N}$  y 0.9‰ en  $\delta^{13}\text{C}$ , categorizándolos según el  $\delta^{15}\text{N}$  como generalistas y sugiriendo el  $\delta^{13}\text{C}$  que se alimentan en un solo ambiente.

Cabe mencionar, que los resultados presentados sobre la amplitud del nicho trófico de la especie, corresponden al análisis de los valores isotópicos, de dientes de animales recolectados en Islas San Benito y Magdalena. Año Nuevo no se incluyó en los análisis para evitar el posible sesgo en los resultados, al demostrarse que esta colonia en particular presenta diferencias isotópicas con los otros sitios de estudio. Sin embargo en todos los análisis realizados anteriormente, en los que se incluyó a Año Nuevo, el tamaño de la varianza aumentó pero se mantuvo la condición de generalista o especialista, según el caso.

#### **8.4 Análisis de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en colágeno óseo**

Se analizaron los valores isotópicos de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de 22 cráneos de *M. angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena. Se confrontó la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  del colágeno óseo de la mandíbula y maxila de un mismo cráneo, en 17 individuos y mostraron estar altamente correlacionadas ( $r = 0.903$ ,  $P < 0.001$ ), (Fig.15); mientras que en  $\delta^{13}\text{C}$  la correlación fue baja y no significativa ( $r = 0.472$ ,  $P > 0.05$ ). Valores comparados de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  fueron diferentes entre las secciones del

cráneo analizadas ( $t=0.642$ , g.l.=32,  $P>0.5$  y  $t= -0.642$ , g.l.=32,  $P>0.5$ , respectivamente).

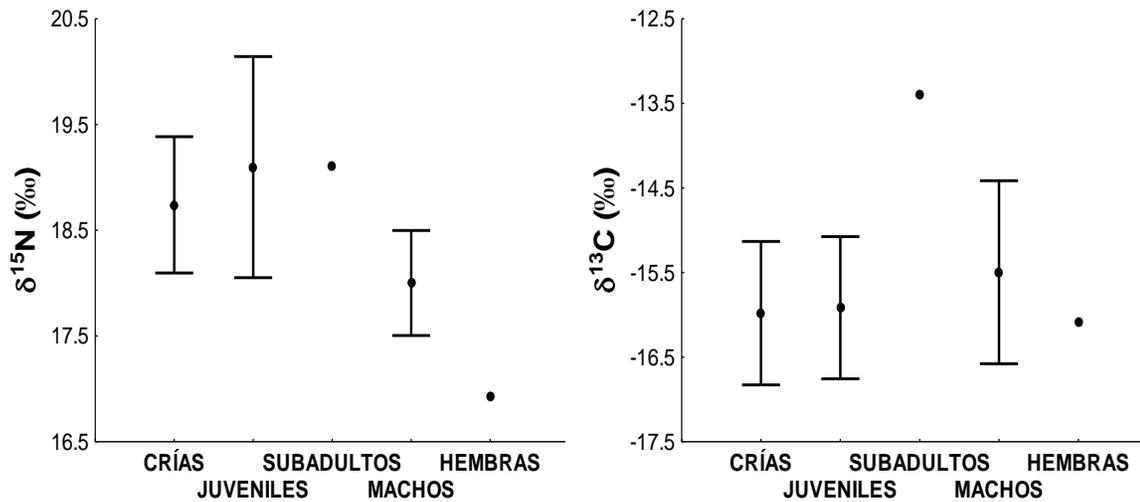


**Figura 15.** Correlación entre los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  del colágeno óseo de la mandíbula y maxila de 17 cráneos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena.

#### 8.4.1 Variaciones isotópicas entre categorías de edad y entre sexos

Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno óseo de 22 individuos de *M. angustirostris* no fueron estadísticamente diferentes entre las categorías de edad ( $H=6.188$ , g.l.= 4,  $P > 0.05$  y  $H= 6.358$ , g.l.= 4,  $P> 0.05$ ); sin embargo los datos mostraron una tendencia a ser distintos entre grupos (Fig. 16).

Los valores promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  más altos correspondieron a los subadultos (19.11‰) y juveniles (19.10‰) los cuales presentaron valores muy cercanos; seguidos por las crías (18.74‰), los machos adultos (18‰) y las hembras adultas (16.93‰).



**Figura 16.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  DS en ‰) del colágeno óseo de 22 individuos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena, agrupados por categorías de edad.

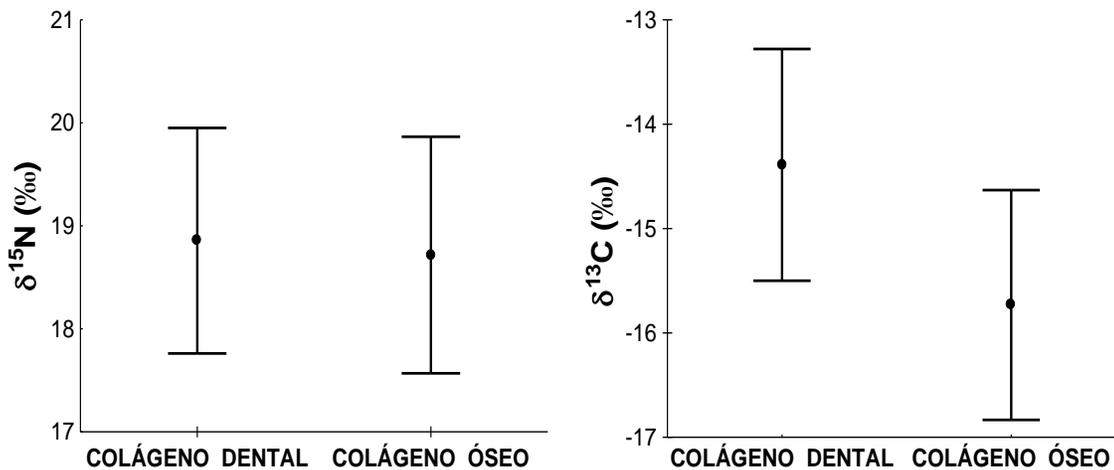
En el caso del  $\delta^{13}\text{C}$ , los machos subadultos mostraron los valores más altos (-13.40‰) y las hembras los más bajos (-15.5‰), mientras que las demás clases de edad presentaron valores muy cercanos (crías = 15.98‰; juveniles = -15.92‰ y machos adultos = -15.50‰).

Entre sexos, la prueba de U de Mann-Whitney no detectó diferencias significativas en  $\delta^{15}\text{N}$  ( $U = 4$ ,  $P > 0.1$ ), ni en  $\delta^{13}\text{C}$  ( $U = 2$ ,  $P > 0.1$ ). Los valores promedios en machos adultos son:  $\delta^{15}\text{N} = 18.32\%$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -14.90\%$ ; y en hembras adultas son:  $\delta^{15}\text{N} = 16.93\%$  y  $\delta^{13}\text{C} = -16.09\%$ .

Cabe mencionar que el tamaño de muestra analizado para cada clase de edad y sexo es pequeño en la mayoría de los casos: Crías ( $n=3$ ), Juveniles ( $n=10$ ), Hembras ( $n=2$ ), Machos subadultos ( $n=2$ ) y Machos adultos ( $n=5$ ) por lo que los resultados pudieran presentar un amplio rango de error.

## 8.5 Comparación isotópica entre tejidos

Las señales isotópicas obtenidas del colágeno dental y óseo de 18 individuos fueron comparadas mediante un ANOVA, el cual no encontró diferencia estadística en  $\delta^{15}\text{N}$  entre los tejidos analizados ( $F = 0.138$ ,  $P > 0.05$ ), pero sí en  $\delta^{13}\text{C}$ , en donde la diferencia entre dentina y tejido óseo fue altamente significativa ( $F = 13.270$ ,  $P < 0.001$ ), (Fig. 17).

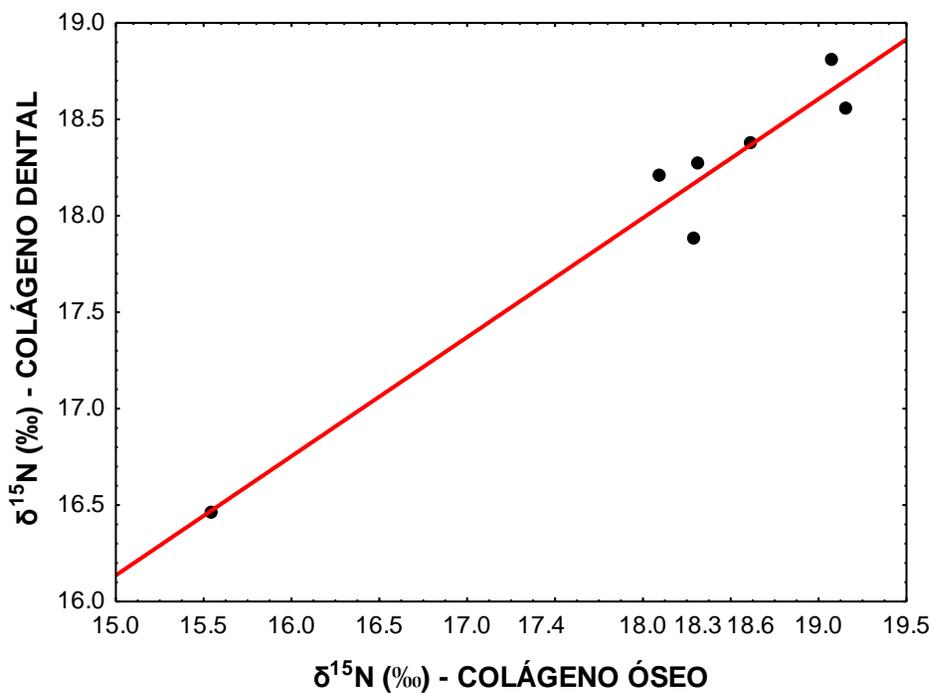


**Figura 17.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  SD en ‰) del colágeno dental y óseo de 18 individuos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena.

Los valores promedio  $\pm$  desviación estándar generales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno dental de los 18 individuos comparados son:  $\delta^{15}\text{N} = 18.47 \pm 1.16\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -13.89 \pm 1.16\text{‰}$ ; mientras que en colágeno óseo son:  $\delta^{15}\text{N} = 18.72 \pm 1.15\text{‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -15.73 \pm 1.10\text{‰}$ .

Se relacionó la señal promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del tejido óseo de la maxila con el promedio obtenido de la sumatoria de las distintas capas de dentina; y se determinó en el caso de  $\delta^{15}\text{N}$ , que la máxima relación entre las señales isotópicas de ambos tejidos, se obtiene al confrontar la señal del hueso con la señal promedio de las últimas cuatro capas de dentina ( $r = 0.991$ ,  $P = 0.0001$ ), (Fig. 18).

También fue significativo y con menor correlación, al confrontar la señal isotópica del hueso con el promedio de las últimas cinco ( $r = 0.940$ ,  $P = 0.0016$ ) y seis ( $r = 0.840$ ,  $P = 0.0362$ ) capas de dentina. En el caso de  $\delta^{13}\text{C}$ , no se encontró correlación significativa entre el hueso y el diente en ningún caso comparado ( $P > 0.1$ ).



**Figura 18.** Correlación entre los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  del colágeno óseo y dental de 18 individuos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena.

## 9. DISCUSIÓN

### 9.1 Patrones isotópicos de Historia trófica

Las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en los tejidos de los depredadores tienden a enriquecerse conforme aumenta el nivel trófico de sus presas, siendo el aumento en el isótopo estable de nitrógeno de  $\sim 2\text{‰}$  y en el carbono de  $\sim 0.5\text{‰}$  en el caso de mamíferos marinos (Kelly, 2000; Lesage *et al.*, 2002), pero pudiendo estar en un rango más amplio de hasta  $\sim 3\text{‰}$  en  $\delta^{15}\text{N}$  y de  $\sim 1\text{‰}$  en  $\delta^{13}\text{C}$  conforme aumenta de un nivel trófico a otro (Schoeninger y De Niro, 1984; Hobson *et al.*, 1996; Kelly, 2000).

En la mayoría de las especies este incremento en los valores isotópicos, ocurre conforme se incrementa la edad de los individuos (Hobson *et al.* 2004), sin embargo diversos estudios han encontrado, que no existe evidencia de cambios en el fraccionamiento depredador–presa con la edad (Minagawa y Wada 1984; Sutoh *et al.*, 1987; Roth y Hobson, 2000; Hobson y Clark, 1992), por lo que cambios ontogenéticos en la dieta de los depredadores, podrían probablemente ser explicados por otras variables, como la correlación negativa entre los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y el tamaño de los animales (Knoff *et al.*, 2008).

De manera general, los perfiles ontogenéticos de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de *M. angustirostris* descritos en este estudio, no son consistentes con los enriquecimientos isotópicos relacionados con el nivel trófico y con la edad de individuos. A pesar de mostrarse una tendencia al incremento de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  con la edad, las fluctuaciones en este isótopo a lo largo de su vida, se encontraron dentro de un intervalo de 3 ‰ con relación al valor promedio; mientras que en  $\delta^{13}\text{C}$ , la señal mantuvo una aparente estabilidad durante la ontogenia de los individuos, presentando en algunos casos, fluctuaciones  $< 1\text{‰}$ , lo que indicaría que el elefante marino del norte, se está alimentando de presas de un mismo nivel trófico durante toda su vida.

Estas diferencias en la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  en *M. angustirostris*, podrían deberse probablemente, a cambios en el tamaño de las presas pero de similar nivel trófico, lo

que corresponde con las mayores capacidades fisiológicas que tienen estos animales en su fase adulta en comparación con su fase juvenil, lo que se basa en las diferencias relativas al almacenamiento de oxígeno y la masa corporal (Thorson y Le Boeuf, 2004; Deutsch *et al.*, 1994; Clinton, 1994).

Los elefantes marinos de ambos sexos y de todas las edades, realizan buceos profundos y prolongados, y aunque los patrones de buceo en animales de dos años son similares al de los adultos (profundidades medias de buceo entre 350 a 400 metros y duración promedio de 18', Le Boeuf 1994), se considera que los animales jóvenes se alimentan de presas de menor tamaño, como se han reportado en estudios de contenido estomacal de animales de distintas edades (Condit y Le Boeuf, 1984; Antonelis *et al.*, 1994).

En los fócidos, la disponibilidad de oxígeno en los tejidos como sangre (hemoglobina) y músculo (mioglobina), determinan la duración del buceo, que en *M. angustirostris* se incrementan positivamente con la edad y/o la masa corporal (Thorson y Le Boeuf, 2004; Deutsch *et al.*, 1994; Clinton, 1994).

En el caso del  $\delta^{13}\text{C}$ , la aparente estabilidad en los valores a lo largo de la vida de los individuos, sugiere que *M. angustirostris* se alimenta en los mismos sitios año tras año. Información que corresponde con lo obtenido en diversos estudios de telemetría satelital en animales de la colonia de Año Nuevo en California, los cuales indican, que en sus migraciones de alimentación post-reproductiva (primavera) y post-muda (otoño), los elefantes marinos regresan a las mismas áreas de alimentación, variando únicamente el tiempo de residencia que es mayor en las hembras después de la muda (Stewart y De Long, 1995; Le Boeuf *et al.*, 2000).

La fidelidad a zonas de alimentación a largo plazo (varios años) en ambientes amplios y extremadamente variables, puede conferir beneficios ecológicos a los animales, tales como el conocimiento de los recursos y sus fluctuaciones (Greenwood, 1980), aún cuando la ganancia de energía pueda no ser elevada y constante en todos los años. En *Mirounga leonina* se determinó que presentan fidelidad a los sitios de alimentación a largo plazo, y que el grado de fidelidad estuvo

asociado al éxito de alimentación obtenido en el año previo. Las regiones visitadas consecutivamente, proveyeron un alto potencial de producción de alimento, mismas que están ligadas a zonas de alta productividad en el océano (Bradshaw *et al.*, 2004).

### **Variación isotópica interanual**

Dentro de cada perfil ontogenético de *M. angustirostris*, se presentó variabilidad interanual en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ . Una posible explicación sería que los cambios en la selección de presas de un año a otro, debido principalmente a su disponibilidad en el ambiente, podrían reflejarse en las firmas isotópicas de los individuos.

La condición corporal de muchos mamíferos marinos varía con las fluctuaciones en la productividad y disponibilidad de su alimento. Las presas son impactadas por variables físicas ambientales como los ciclos de temperatura y productividad primaria en el océano, además de eventos irregulares de ciclo corto, como El Niño Oscilación de Sur (ENOS), con frecuencia reciente de entre 3 y 4 años y efectos similares a los que ocurren en eventos de ciclo largo, como la Oscilación Decadal del Pacífico (ODP), cuya persistencia es de 20 a 30 años. Estos fenómenos de gran escala del Océano Pacífico, pueden a su vez, amplificar los efectos de los ciclos de escala temporal corta (Le Boeuf y Crocker, 2005).

Se conoce que la alimentación del elefante marino del norte, así como la de muchos organismos marinos, está ligada a la disponibilidad de presas en el ecosistema, consumiendo las más abundantes y manteniendo la habilidad de cambiar de presas cuando las más abundantes escasean. Por ejemplo, cuando la disponibilidad de presas fue alterada en los años 1982-1983 por el evento ENOS (Trillmich y Ono, 1991), se encontró, mediante lavados estomacales de elefantes marinos, un alto porcentaje (> 40%) de langostilla (*Pleurocondes planipes*) que no es común en su dieta, pero sí muy abundante en esos años, por lo que se sugiere una diversificación de dieta en tiempos de escasez de recursos (Antonelis y Fiscus, 1980).

De igual manera, se ha determinado una relación positiva entre la abundancia de merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) y la frecuencia de consumo por el elefante marino. Este recurso es muy común en las costas del sur y centro de California (Bailey *et al.*, 1982) y su biomasa que varía anualmente, se refleja en la proporción dentro de la dieta de *M. angustirostris*. Similar relación ha sido demostrada entre la abundancia y disponibilidad de recursos y el consumo por parte del lobo marino de California (Antonelis *et al.*, 1994).

Otra relación importante se encontró entre el bajo éxito de alimentación de las hembras de *M. angustirostris* y altas temperaturas oceánicas (Le Boeuf y Crocker, 2005), por lo que se esperaría que durante los años ENOS o la fase cálida del ODP, se presenten valores anómalos, bajos o menos enriquecidos de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en los perfiles de los individuos.

Los valores bajos de  $\delta^{15}\text{N}$  precedidos por valores significativamente más altos, indicarían cambios de alimentación asociados a: 1) cambio de presas de mayor a menor nivel trófico, 2) reducción en la productividad de la zona de alimentación, y/o 3) desplazamiento del animal de una zona de mayor a menor productividad. Cuando disminuye la productividad primaria en el medio, se produce un efecto en cascada en la biomasa general de los recursos, que provocaría que los depredadores, reduzcan su espectro alimentario o cambien de presas dependiendo de la región (Elorriaga-Verplancken, 2009). Mientras que valores bajos de  $\delta^{13}\text{C}$ , sugieren una reducción en la productividad primaria, lo cual implica una mayor concentración de  $\text{CO}_2$  (involucrado en la reacción de fotosíntesis) en el medio, el cual al estar enriquecido en  $^{12}\text{C}$ , genera una disminución del  $\delta^{13}\text{C}$  (Laws *et al.*, 1995; Bidigare *et al.*, 1997).

En este sentido, el análisis de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en colágeno dental de *M. angustirostris*, careció de resolución para detectar la influencia de eventos ambientales como el ENOS, que a pesar de ser notable en algunos casos, no fue consistente al comparar un grupo de valores de diferentes individuos en un mismo "año El Niño" (como el 1997- 1998), debido a que existió una amplia variabilidad intra individual y una posible incorporación de equivalentes ecológicos a la dieta. Un caso

similar se encontró en *Z. californianus*, utilizando la misma técnica pero comparando series de tiempo de varias décadas (Elorriaga-Verplancken, 2009).

### **Fraccionamiento isotópico**

De manera general en casi todos los perfiles isotópicos descritos, la mayor diferencia de  $\delta^{15}\text{N}$  entre un valor y otro, se presentó entre los valores de la capa 0 y la capa 1, consideradas en la mayoría de las especies como la capa fetal y del primer año como juveniles en los animales respectivamente.

Para tener una mejor comprensión de la correspondencia de estas capas con la alimentación es necesario analizar ciertos aspectos:

En los pinnípedos se presentan dos tipos de dentición, la decidua y la permanente, que tienen su desarrollo en etapas consecutivas en el tiempo (durante el crecimiento embrionario y después del nacimiento respectivamente) y en cuyo proceso, se reemplazan los dientes deciduos por los permanentes, aunque los primeros pueden persistir varios años en la mandíbula de los animales, pero de manera vestigial (Briggs, 1974; Abbott y Verstraete, 2005) o como una delgada capa sobre los dientes permanentes (Stewart *et al.*, 1998).

En general, estos primeros dientes deciduos tienden a desaparecer por procesos de reabsorción (Laws, 1953; King, 1983) que suele ocurrir a los pocos días del nacimiento o durante la vida intrauterina del animal (Stewart *et al.*, 1998) dando paso a la erupción de los dientes permanentes, los cuales varían en el tiempo de aparición de acuerdo a su posición en la mandíbula y entre especies.

En los otáridos, el reemplazo de los incisivos medios, ocurre durante la vida fetal del animal, mientras que los caninos son reemplazados entre las 5 y 6 semanas después del nacimiento. En los fócidos, el reemplazo de los dientes incisivos y caninos suele ocurrir de manera muy temprana y regularmente antes del nacimiento. En la *Phoca hispida*, la aparición de la dentición permanente, puede ocurrir durante la vida intrauterina del animal como también después del nacimiento (Stewart *et al.*,

1998), mientras que en *M. leonina*, tardan en aparecer hasta los 6 u 8 días de nacido (Briggs, 1974).

En varios estudios de ontogenia alimentaria principalmente en otáridos, esta primera capa amplia y clara que se presenta en el diente (capa 0), se considera que integra la información isotópica de la vida fetal de los individuos, ya que se observa en los dientes permanentes, una línea neonatal que separa la dentina embrionaria de la post-embrionaria (Stewart *et al.*, 1998). Esta línea neonatal es reconocida como la línea de nacimiento y se forma en ambos dientes deciduos y permanentes, si el desarrollo de estos, comienza dentro del útero como por ejemplo en *Enhydra lutris* (Ryazanov y Klevezal, 1991; Klevezal, 1996).

En la *Phoca vitulina* se determinó que el crecimiento de los dientes permanentes ocurre a la par de los dientes deciduos, mostrando los deciduos una orientación diferente de la dentina tubular a la de los permanentes y que completa su desarrollo, hasta las 4 semanas posteriores al nacimiento, por lo que cuando se activa la reabsorción, su desarrollo es incompleto (Meyer y Matzke, 2004). En ese estudio además se relacionó, el reducido periodo de lactancia de esta especie (de 4 a 6 semanas) con la formación temprana de los dientes permanentes, principalmente por el hecho de que cambian su alimentación hacia peces y crustáceos al poco tiempo del destete (Reijnders, 1992).

En el caso particular de especies del género *Mirounga* no se conoce como ocurre la formación y reabsorción de los dientes deciduos, ni la formación de los permanentes. Únicamente se ha reportado que en *M. leonina* los permanentes aparecen a los 6 u 8 días después del nacimiento y que los deciduos pueden persistir hasta los 7 años, mientras que en *M. angustirostris* su persistencia es hasta los 12 años de edad (Briggs, 1974). Por lo que cabe la posibilidad de que esta primera capa que se forma en el diente (capa 0), podría integrar la información de los 26 a 28 días correspondientes al periodo de lactancia de la especie, el cual por ser bastante intensivo, podría impregnarse en el diente como una sola capa independiente, de grosor significativo, en el primer año de vida del animal. De ser así, esta capa debe

mostrar una señal isotópica enriquecida en  $\delta^{15}\text{N}$  y disminuida en  $\delta^{13}\text{C}$ , es decir, influenciada por la lactancia.

Durante el consumo exclusivo de leche materna, las señales isotópicas de los tejidos de las crías, reflejan un enriquecimiento isotópico equivalente al que existiría entre niveles tróficos o entre un depredador y su presa (Fogel *et al.*, 1989; Hobson y Sease, 1998; Jenkins *et al.*, 2001; Newsome *et al.*, 2006). Esto se debe principalmente, a que la madre cataboliza sus tejidos para producir leche y la cría al consumirla, adiciona la señal isotópica de la madre a su propia firma, produciendo un enriquecimiento de ~2 a 3‰ en  $\delta^{15}\text{N}$  y una disminución de ~1‰ en  $\delta^{13}\text{C}$ , relativo a la concentración de lípidos de la leche (DeNiro y Epstein, 1978; Owens, 1987; Hobson y Welch, 1992); Newsome, *et al.*, 2006).

Por el contrario, si esta primera capa integrase la información de la vida fetal del individuo, se esperaría que esta firma isotópica sea muy parecida a la de un adulto sin presentar enriquecimiento alguno. Esta aseveración se soporta en el estudio realizado por Richards *et al.* (2002), en el que analizaron isotópicamente el colágeno óseo de la costilla de humanos de una civilización medieval del noreste de Inglaterra y determinaron que dichos individuos durante su vida fetal, presentaron valores similares a los de sus madres, y que las señales isotópicas de los fetos no estuvieron enriquecidas en  $\delta^{15}\text{N}$  ni en  $\delta^{13}\text{C}$ . Adicionalmente, determinaron que los lactantes, presentaron firmas isotópicas más enriquecidas en comparación con los fetos y los adultos.

En el presente estudio, al comparar la señal promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de la capa cero ( $\delta^{15}\text{N} = 19.48\text{‰}$  y  $\delta^{13}\text{C} = -14.47\text{‰}$ ) con la señal teórica promedio de hembras adultas ( $\delta^{15}\text{N} = 17.61\text{‰}$  y  $\delta^{13}\text{C} = -14.03\text{‰}$ ), se presentó una diferencia entre la fase de cría y la fase de hembra adulta de 1.87‰ para  $\delta^{15}\text{N}$  y de -0.44‰ para  $\delta^{13}\text{C}$ , consistente con un fraccionamiento isotópico entre crías y madres estadísticamente significativo ( $P < 0.5$ ).

Similar al fraccionamiento reportado entre la fase de cría y la fase de hembra adulta de *Z. californianus* ( $\delta^{15}\text{N} = 1.7\text{‰}$ ) de Islas San Benito (Elorriaga-Verplancken,

2009), al lobo marino de Steller ( $\delta^{15}\text{N}= 2\text{-}3\text{‰}$ ) del Mar de Bering en el Golfo de Alaska (Hobson y Sease, 1998) y el lobo fino del Norte ( $\delta^{15}\text{N}= 3\text{‰}$ ) de las Islas Pribilof (Newsome *et al.*, 2006). Todos ellos determinados mediante el análisis isotópico del colágeno dental de los individuos.

De manera general, se espera que la capa 1 presente valores menos enriquecidos en  $\delta^{15}\text{N}$  y más enriquecidos en  $\delta^{13}\text{C}$  con respecto a la influenciada por la lactancia, debido a la incorporación de nuevos recursos alimentarios en las dietas de los individuos, que son isotópicamente menos enriquecidos que la leche materna (Hobson y Sease, 1998).

El enriquecimiento en  $\delta^{15}\text{N}$  en la capa 1 de algunos animales resultó relativamente alta, con aproximadamente 1.5 ‰ en comparación con los otros años. Similar a lo reportado en un individuo macho de *M. angustirostris* recolectado en la región central del Golfo de Alaska, el cual presentó un enriquecimiento en la primera capa de dentina de aproximadamente 1 ‰ en comparación con las subsiguientes capas (Hobson y Sease, 1998).

Las crías de elefante marino del norte son destetadas abruptamente a las cuatro semanas y luego experimentan un periodo de abstinencia de 8 a 12 semanas (Reiter *et al.* 1978, Costa *et al.* 1986). Al igual que el lobo fino del norte (*C. ursinus*), las crías de *M. angustirostris*, pueden en última instancia depender de los recursos alimentarios derivados de sus madres hasta por 16 semanas, y es conocido que el ayuno, podría también resultar en un enriquecimiento de  $\delta^{15}\text{N}$  (Hobson *et al.*, 1993). En este sentido, el enriquecimiento isotópico en esta primera capa, podría reflejar en parte el efecto del estrés nutricional post-lactancia.

## **9.2 Variación en $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el colágeno dental de *Mirounga angustirostris* entre clases de edad y sexo.**

En especies que presentan acentuado dimorfismo sexual, es muy común encontrar diferencias en las estrategias y zonas de alimentación entre sexos. El uso diferencial del hábitat para alimentarse, puede generar diferencias en el tipo de

presas y en las señales isotópicas, tanto entre sexos (Elorriaga-Verplancken, 2009), como entre juveniles y adultos (Lewis *et al.*, 2006).

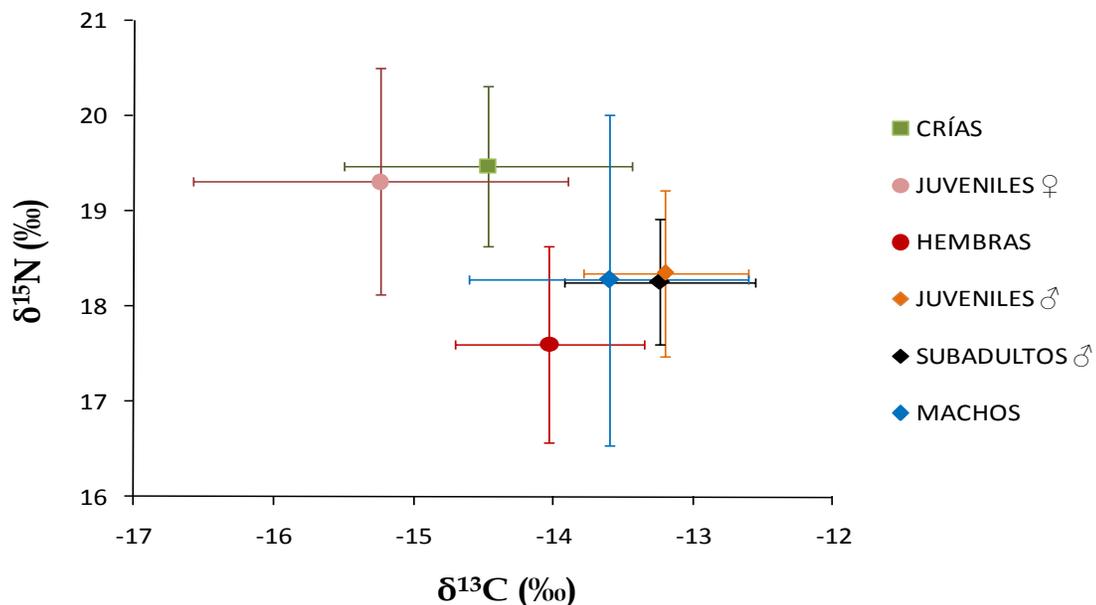
El poco conocimiento que existe sobre la alimentación del elefante marino del norte, proviene del análisis del contenido estomacal de animales muertos, o del lavado estomacal de animales que retornaron a sus colonias (Condit y Le Boeuf, 1984; Antonelis *et al.*, 1987 y 1994; De Long y Stewart, 1991). Sin embargo esta información sólo representa los últimos días de alimentación en tránsito de los animales, e indican que sus presas principales son cefalópodos bioluminiscentes epi y mesopelágicos y que todas las edades, consumen peces y calamares principalmente de aquellas especies más abundantes que se encuentran en grandes cardúmenes, como la merluza del Pacífico (*M. productus*) y algunas que realizan migraciones verticales cada día en la columna de agua, como los cefalópodos *Octopoteuthis deletron* y *Onycoteuthis borealjaponicus* (Condit y Le Boeuf, 1984; Antonelis *et al.*, 1994).

El conocimiento del espectro trófico de *M. angustirostris*, combinado con la información sobre sus sitios de alimentación (Condit y Le Boeuf, 1984), patrones de buceo (Le Boeuf *et al.*, 1993) y rutas migratorias (Le Boeuf *et al.*, 2000) determinados por diversas técnicas, amplió y clarificó el panorama sobre la ecología trófica de este fócido; indicando que en la especie, ocurre un consumo preferencial de ciertas presas, debido principalmente a la diferencia en los patrones de buceo entre machos y hembras (Le Boeuf *et al.*, 1993), así como una segregación sexual de los sitios de alimentación (Burton y Koch, 1999).

Estos estudios sugieren que: 1) los machos adultos se alimenten principalmente de presas bentónicas en áreas focales específicas a las que retornan en las subsecuentes migraciones, localizadas a lo largo de la plataforma continental en altas latitudes; 2) que las hembras adultas prefieren presas epi y mesopelágicas distribuidas en parches en un amplio rango de extensión geográfica, caracterizado por aguas profundas en latitudes medias, donde suceden las migraciones verticales de sus presas y a cuyos sitios retornan regularmente; 3) los machos subadultos presenten una alimentación muy parecida a los machos adultos pero con mayor

consumo de presas neríticas, como la lamprea (*Lamprera tridentata*) y, 4) juveniles de ambos sexos, son observados en varios ambientes y a las mismas latitudes, preferentemente en aguas superficiales y cerca de la costa, aunque también a profundidades mayores a los 200 m y fuera de la costa (Condit y Le Boeuf, 1984; Antonelis *et al.*, 1994; Le Boeuf, 1994; Stewart y De Long 1994; Le Boeuf *et al.*, 2000).

Los resultados obtenidos en el presente estudio son consistentes con la información arriba expuesta, ya que las diferencias estadísticas en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  encontradas entre las clases de edad y sexo de *M. angustirostris* muestran estrategias de alimentación características de cada caso (Fig. 19).



**Figura 19.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  desviación estándar en ‰) del colágeno dental correspondientes a las distintas clases de edad y sexo de 35 individuos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena.

Las crías presentan los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  más altos en comparación con las demás categorías de edad, por alimentarse exclusivamente de leche materna, que genera efectos de enriquecimiento anteriormente explicados. En el caso del  $\delta^{13}\text{C}$ , estos valores en crías reflejan los distintos ambientes en los que se estuvieron

alimentando sus madres, ya que durante la lactancia la única fuente de alimentación es la leche materna.

En los juveniles se presentan dos tendencias distintas, afectadas por la zona de alimentación que prefiere cada sexo. Correspondiendo la alimentación de hembras juveniles a zonas más oceánicas ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y a latitudes medias ( $\delta^{15}\text{N}$ ), mientras que los machos juveniles se alimentan en zonas costeras y a latitudes más altas. Esto indica que desde edades muy tempranas existe una segregación de los sitios de alimentación entre sexos, debida probablemente al mayor requerimiento energético de los machos por presentar la tasa de crecimiento más acelerada que en las hembras (Clinton, 1994).

Los machos requieren tres veces más energía que las hembras (Le Boeuf et al. 1993; Boyd et al. 1994) por lo que se espera que se alimenten en áreas donde exista una mayor abundancia de presas, además las hembras podrían no ser lo suficientemente grandes, como para capturar presas bentónicas grandes o podría representar mayor costo energético para ellas, el migrar a zonas donde estas presas se localizan (Le Boeuf, 1994).

Después del primer año de edad, los machos son más grandes que las hembras y desde los dos a los cuatro años, la tasa de crecimiento en machos es más acelerada que en las hembras. Las curvas de crecimiento indican que la tasa de crecimiento en hembras disminuye constantemente después del 1er año de vida. Mientras que en los machos, después de una disminución en la tasa de crecimiento, vuelve a suceder un incremento a los 6 o 7 años de edad, justamente uno o dos años después de la pubertad. Patrón de crecimiento también reportado en machos de *C. ursinus* (Clinton, 1994).

Estudios previos indican la reducida capacidad de buceo de los juveniles con respecto a los adultos (Le Boeuf et al., 1996) y un rápido desarrollo de diferencias sexuales en las estrategias de alimentación (Le Boeuf et al., 1993), las cuales han sido identificadas desde los primeros viajes al mar (Le Boeuf et al., 1996). El incremento de las capacidades de buceo en los juveniles, ocurre a partir del 3er y 4to

viaje de alimentación, mostrando las hembras el desarrollo de cambios en su comportamiento, que no impactan significativamente en el éxito de su alimentación (Zeno *et al.*, 2008).

Los resultados isotópicos sugieren que las hembras juveniles podrían alimentarse en varios ambientes, ya que sus señales isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  mostraron un amplio rango de valores, o bien presentar diversas estrategias de alimentación. Auriolles *et al.* (2006), analizó isotópicamente el pelo de crías de esta especie y encontró que la señal de  $\delta^{13}\text{C}$  es muy amplia, especialmente para la población de Islas San Benito; mientras que Simmons *et al.* (2007), observaron tres estrategias de alimentación en hembras adultas de este fócido (costera-bentónica, costera-pelágica y oceánica pelágica), mismas que deben tener un efecto en las señales isotópicas que los organismos asimilan en sus tejidos.

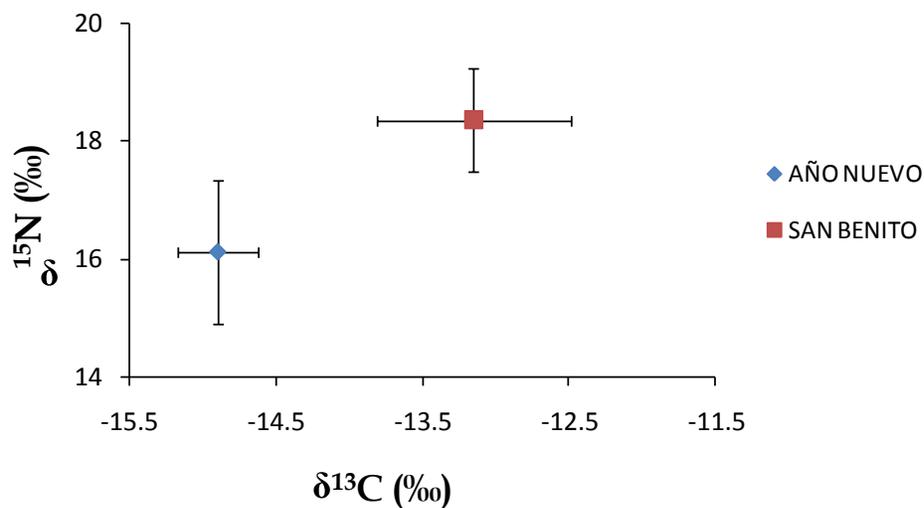
La información encontrada en el presente estudio, es consistente con las rutas migratorias descritas para hembras juveniles y adultas, las cuales indican que ciertos animales realizan buceos en la plataforma continental del Golfo de Alaska, zonas donde los machos adultos se alimentan, y no a mar abierto (Le Boeuf *et al.*, 2000); siendo este comportamiento, una de las estrategias de alimentación antes descritas. En el caso de los machos juveniles, el ambiente de alimentación es muy reducido (costero-bentónico).

Los machos subadultos y adultos presentaron señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  muy similares a los machos juveniles, indicando que los individuos de este sexo presentan un tipo de alimentación costera-bentónica durante toda su vida; sin embargo, los machos adultos podrían además, presentar una alimentación costera-pelágica en altas y medias latitudes, ya que el rango de sus valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  así lo sugieren. Una alimentación en altas y medias latitudes en los machos adultos, fue propuesta por Burton y Koch (1999) al analizar isótopos estables en colágeno óseo.

Al comparar el valor isotópico promedio de  $\delta^{13}\text{C}$  de los machos de Islas San Benito ( $\delta^{13}\text{C} = -13.11\text{‰}$ ) a  $28^{\circ}19\text{N}$ , donde se concentran la mayor parte de las

muestras del presente estudio, con la información proveniente de un macho de avanzada edad de Isla Año Nuevo ( $\delta^{13}\text{C} = -14.90\text{‰}$ ) a  $37^\circ 06' \text{ N}$ , también analizado en este estudio y la información bibliográfica de un macho subadulto recolectado en la región central del Golfo de Alaska ( $\delta^{13}\text{C} = -14.8$ ) a  $57^\circ 39' \text{ N}$  (Hobson y Sease 1998), surge la hipótesis de que exista una segregación de sitios alimentación entre machos de diferentes colonias.

Cuando se analizaron estadísticamente los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de las colonias de San Benito y Año Nuevo, se encontraron diferencias significativas incluso al agrupar los datos por clases de edad, sugiriendo que no existe una superposición de las zonas de alimentación en individuos de diferentes colonias (Fig. 20).



**Figura 20.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  desviación estándar en ‰) del colágeno dental de seis machos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Año Nuevo.

Podría ocurrir que los machos de San Benito se estén alimentando a latitudes menores que los machos de Año Nuevo, del mismo modo que sucede con las hembras de *M. angustirostris* de ambas colonias, donde las hembras de San Benito, muestran centros focales de alimentación, que podrían situarse  $\sim 8^\circ$  al sur con respecto al de las hembras de Año Nuevo (Aurioles *et al.*, 2006).

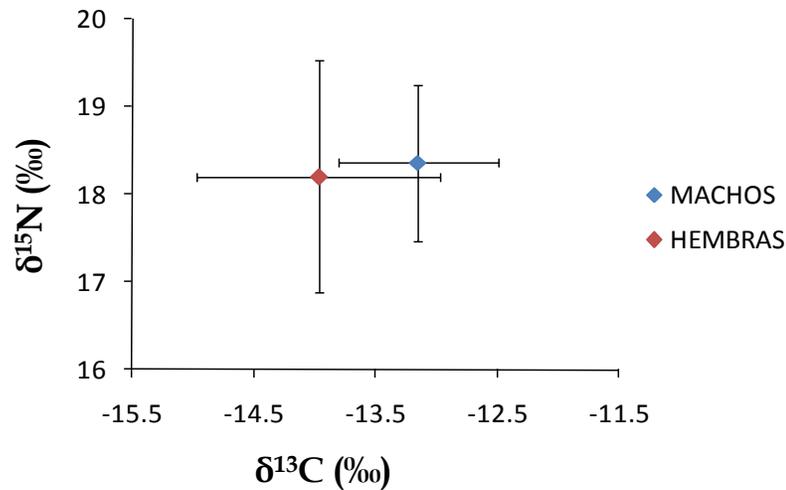
Los valores isotópicos de hembras adultas encontrados en este estudio, sugieren que estos individuos se alimentan probablemente de especies pelágicas en zonas oceánicas y a latitudes altas, en un rango espacial (longitudinal) menos extenso que las hembras juveniles. Las diferencias estadísticas en las señales isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de hembras con respecto a las demás clases de edad, indicarían a su vez una estrategia de alimentación distinta.

Estudios previos han documentado que las hembras adultas de *M. angustirostris* se alimentan en un rango más amplio que las juveniles (Le Boeuf *et al.*, 1996), principalmente por el hecho de que los animales, adquieren mayor experiencia de buceo con la edad, incrementando la distancia del viaje de alimentación; del mismo modo en que se ha reportado para individuos de esta clase de edad y sexo de *M. leonina* en mares del sur (Field *et al.*, 2005).

Adicionalmente se ha indicado que en juveniles de elefante marino del norte, el número y duración del buceo a lo largo de la plataforma continental, decrece con la edad (Le Boeuf *et al.*, 1996) y que son las adultas las que invierten más tiempo en buscar los parches de alimentación que las juveniles (Zeno *et al.*, 2008).

De este modo, se sugiere que las hembras juveniles exploran ambientes costeros y oceánicos a las mismas latitudes, sin alejarse mucho de sus colonias; mientras que las adultas, realizan largas migraciones hacia el norte y a mar abierto, que les permite explotar parches de alimentación de mejor calidad, que a su vez podrían incrementar potencialmente la duración del buceo de alimentación (Field *et al.*, 2005).

Cuando se analizó de manera integral los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de cada sexo sin escatimar en la edad de los individuos, se observan más claramente las diferencias en las estrategias y/o sitios de alimentación, donde los machos muestran un patrón costero-bentónico, mientras que las hembras, una amplitud que cubre tanto lo costero-bentónico, como el ámbito costero-pelágico y oceánico-pelágico. Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , sugieren por su parte, el probable consumo de presas de similar nivel trófico (Fig. 21).



**Figura 21.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  desviación estándar en ‰) del colágeno dental de cinco machos y cuatro hembras de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena.

Debido a que está ampliamente documentado, tanto por análisis de contenido estomacal como por telemetría satelital, que los machos y hembras comparten la mayoría de las presas pero que el espectro alimentario en machos es más diverso, incluyendo mixinidos, lampreas y elasmobranquios que no han sido reportados en la dieta de las hembras (Condit y Le Boeuf, 1984; Antonelis *et al.*, 1987, 1994; De Long y Stewart, 1991), cabe deducir, que en la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  de los machos, puede verse reflejado el efecto latitudinal de sus zonas de alimentación, sobre los isótopos de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ , el cual hace que los valores isotópicos desde la base de la trama trófica, materia orgánica particulada (MOP), se incrementen en  $\sim 1\text{‰}$  en  $\delta^{15}\text{N}$  conforme disminuye  $\sim 4^\circ$  de latitud y aumenten en  $\sim 1\text{‰}$  en  $\delta^{13}\text{C}$  por cada decremento de  $\sim 5^\circ$  de latitud (Aurioles *et al.*, 2006).

La reducción en  $\delta^{13}\text{C}$  en altas latitudes tiene que ver con las temperaturas bajas, las cuales disminuyen la tasa de fijación del isótopo estable de carbono y aumentan la solubilidad de  $\text{CO}_2$ , incrementando su concentración en el medio. El  $\text{CO}_2$  se encuentra enriquecido en  $^{12}\text{C}$ , reduciendo la razón de  $\delta^{13}\text{C}$  (Goericke y Fry, 1994; Michener y Schell, 1994; Schell *et al.*, 1998).

Los altos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  en latitudes bajas podrían estar relacionados con la presencia de zonas de desnitrificación, fuertemente ligadas a la capa mínima de oxígeno, donde los altos niveles de producción regenerada, reducen una gran cantidad de nitratos que aumentan los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (Wada y Hattori, 1991; Altabet *et al.*, 1995; Altabet, 2001). Estos nitratos son eventualmente incorporados a la zona fótica, provocando que los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  con los que inicia la red trófica sean más elevados.

De esta manera, se podría explicar, que aunque los machos consuman presas de un nivel trófico mayor que las hembras, por alimentarse los machos en altas latitudes donde las señales isotópicas desde la base de la trama trófica son menores, el valor de  $\delta^{15}\text{N}$  relativo a sus presas se equipare, mostrando una firma isotópica promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $18.36 \pm 0.88$  ‰) muy similar al de las hembras ( $18.20 \pm 1.32$ ‰), difiriendo en 0.16 ‰ y no siendo estadísticamente significativa.

Resultados similares se encontraron en el estudio de Burton y Koch (1999), en el que las diferencias en  $\delta^{15}\text{N}$  entre sexos fueron de 0.1 ‰; los valores isotópicos en machos indican una alimentación en medias y altas latitudes, mientras que en las hembras los sitios de alimentación se ubican en latitudes altas del Pacífico Nororiental.

### **Variación isotópica intra-sexual.**

Un aspecto importante de resaltar en el presente estudio, es que los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  dentro de cada perfil de machos y hembras presentaron una tendencia a ser diferente entre individuos de un mismo sexo. Las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  dentro de un mismo animal, se presentaron muy estables durante toda su vida, indicando una posible preferencia de presas y zonas de alimentación diferente a la de otros animales del mismo sexo.

Lewis *et al.*, (2006) analizaron el  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en vibrisas de elefante marino del sur (*M. leonina*), que se presume representa aproximadamente un año de vida y en la que se encontró que las hembras mostraron diferencias isotópicas muy pequeñas,

y que tanto las presas que consumen como su nivel trófico, fueron diferentes al de los machos. Estos en cambio, mostraron una gran amplitud de presas de distintos niveles tróficos y presentaron valores demasiado bajos como para ligarlos con las presas potenciales de peces y cefalópodos que se presume conforman su dieta.

Un importante hallazgo dentro de ese estudio, fue la posible diferenciación de estrategias de alimentación en grupos de machos (tres grupos), encontrando diferencias entre los grupos y dentro de cada grupo, sugiriendo una aparente repartición de recursos dentro del mismo sexo y entre sexos. Esta “repartición de recursos” podría reflejar 1) la competencia entre machos y hembras, 2) las diferentes capacidades y requerimientos de machos y hembras debido al acentuado dimorfismo sexual de la especie y 3) las distintas áreas de alimentación que prefiere cada sexo. Mientras que las diferencias dentro del mismo sexo, podrían indicar una diversificación de estrategias alimentarias en esta especie.

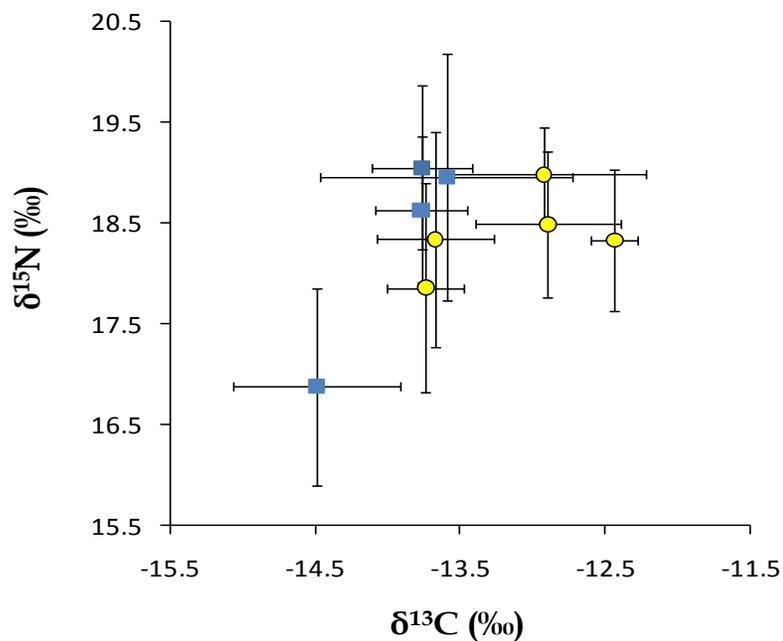
Algunos de los aspectos que se deben cumplir para que suceda una diversificación de las estrategias alimentarias en ciertas especies son: 1) generalmente se presenta en especies consideradas depredadores tope, debido que estos tienen a su disposición un amplio rango de opciones para seleccionar su alimentación (Bolnick *et al.*, 2003); 2) en poblaciones que estén sujetas a una baja competencia inter-específica y una alta competencia intra-específica, lo que genera una respuesta conductual para la repartición de los recursos alimentarios y disminuir la competencia (Estes *et al.*, 2003); 3) en organismos que habitan áreas donde existe una alta diversidad de especies presa, lo que aumenta las opciones para escoger presas y evitar la competencia por el alimento (Estes *et al.*, 2003) y 4) en poblaciones donde las diferencias fenotípicas entre sus individuos es notoria de modo que existen distintas capacidades fisiológicas y hasta de organización social, que contribuyen a una explotación diferencial de los recursos alimentarios (Estes *et al.*, 2003).

Las condiciones anteriormente expuestas, podrían ajustarse a la ecología trófica del elefante marino del norte, ya que se presume que no existe competencia entre sexos, sino una estrategia de alimentación (buceo y sitios de alimentación) distinta. Por otra parte, aunque habite en ecosistemas de altas y medias latitudes que

no son considerados de alta diversidad de especies, varios estudios de contenido estomacal sugieren que el espectro alimentario es bastante amplio (alrededor de 50 especies presas), (Morejohn y Baltz 1970; Condit y Le Boeuf, 1984; Antonelis, *et al.*, 1994).

Las diferencias estadísticas entre individuos de un mismo sexo, encontradas en este estudio, sugieren una probable diversificación intrasexual de estrategias alimentarias en *M. angustirostris*.

En la figura 22, se puede apreciar que los machos presentan una estrategia de alimentación costera-bentónica bien definida, mientras que las hembras, presentan una estrategia más oceánica-pelágica; pudiendo compartir animales de ambos sexos, una tercera estrategia costera-pelágica, donde los machos se alimentan en altas latitudes y las hembras en latitudes medias.



**Figura 22.** Valores individuales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  desviación estándar en ‰) del colágeno dental de cinco machos (en amarillo) y cuatro hembras (en azul) de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena.

### 9.3 Variación isotópica intra-anual:

#### **Detección de periodos de menor o mayor intensidad de alimentación**

Durante periodos de abstinencia, la mayoría de los mamíferos tienden a utilizar sus reservas lipídicas, antes que las reservas de proteínas. Esto representa un gran problema para mamíferos marinos que casi dependen de sus lípidos como el mayor componente de grasa (Noren *et al.*, 2003).

Durante el ayuno, la tasa metabólica disminuye, reduciendo la cantidad de nutrientes que pueden ser catabolizados para mantener los costos de energía (Champagne *et al.*, 2006). El patrón de ayuno típico en mamíferos consiste en tres fases: 1) el cuerpo limita el catabolismo de proteínas e incrementa la oxidación de grasa (Young y Scrimshaw, 1971; Saudek y Felig, 1976; Castellini y Rea, 1992), 2) después de un extenso periodo de ayuno, se reduce la circulación libre de los ácidos grasos y se incrementa la pérdida de proteínas (Goodman *et al.*, 1984) y 3) ocurre la inanición terminal, cuando se pierde entre un 30 y 50% de la proteína del cuerpo (Castellini y Rea, 1992).

Los periodos de estrés nutricional en varias especies de aves y mamíferos se han podido detectar como enriquecimientos en la señal isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$  en sus tejidos (Hobson y Clark, 1992; Hobson *et al.*, 1993; Hobson y Schell, 1998; Kelly, 2000; Kurlle y Worthy, 2001). Esto debido a que la utilización de nitrógeno más enriquecido en  $^{15}\text{N}$  proveniente del catabolismo de las proteínas del cuerpo puede elevar los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de los tejidos (Minagawa y Wada, 1984; Sutoh *et al.*, 1987; Hobson y Clark, 1992; Ambrose, 1993; Kelly, 2000).

Cuando un animal se encuentra en ayuno o mantiene una dieta baja en proteínas, el balance de nitrógeno es mantenido a través del reciclaje del mismo, que se piensa, sucede cuando la urea es hidrolizada en el colon por la microflora (Haupt y Haupt, 1968; Waterlow *et al.*, 1978; Jackson, 1998). El nitrógeno derivado de la urea es retenido dentro de la reserva metabólica de nitrógeno y es usado para la síntesis de proteínas (Haupt, 1963; Haupt y Haupt, 1971; Waterlow *et al.*, 1978; Forrester *et al.*, 1994; Gannes *et al.*, 1997; Jackson, 1998).

El nitrógeno disponible para la síntesis de las proteínas del cuerpo puede ser reciclado de las reservas metabólicas de aminoácidos, enriqueciéndose con el alimento asimilado, como también por el catabolismo de las proteínas. Una primera fuente de fraccionamiento isotópico de nitrógeno se cree sucede durante los procesos de desaminación y transaminación de aminoácidos (Gaebler *et al.*, 1966; Minagawa y Wada, 1984). De este modo los aminoácidos metabolizados son enriquecidos durante el anabolismo mientras que los productos de desecho nitrogenados son disminuidos en  $^{15}\text{N}$  relativo a sus dietas (Steele y Daniel, 1978).

Bajo condiciones de abstinencia o estrés nutricional, una gran proporción de los compuestos nitrogenados disponibles para la síntesis de proteínas son derivados del catabolismo y debido a que la fuente de nitrógeno ha sido enriquecida en  $^{15}\text{N}$  relativo a sus dietas, podría ocurrir un enriquecimiento adicional del nitrógeno de las reservas metabólicas, generando un eventual enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  en todos los tejidos del cuerpo, similar al ocurrido durante periodos sin estrés nutricional (Hobson *et al.*, 1993).

Dentro de cada capa de crecimiento en el diente, las bandas que conforman cada una de ellas tienen su formación de acuerdo a periodos distintos de intensidad de alimentación, indicando distintos grados de mineralización o calcificación de la dentina, los cuales corresponden a estados nutricionales de los animales, asociados a periodos de alimentación intensiva (formación de la banda clara o hipermineralizada) y de menor intensidad o abstinencia (formación de la banda opaca o hipomineralizada), (Klevezal, 1996).

En el elefante marino del norte, la primera capa de dentina que se forma, es la correspondiente al periodo de lactancia (este estudio). En las subsecuentes capas se alternan las bandas clara y oscura, correspondiendo de esta manera la banda clara, con el periodo de intensa alimentación post-reproductivo o primer viaje de alimentación en el mar; mientras que la banda oscura representaría los periodos de ayuno en tierra (reproducción y muda) y el segundo viaje de alimentación menos intenso.

Estas diferencias en cuanto a los periodos de integración de cada banda se reflejan en el grosor de cada una de ellas siendo la banda clara más angosta que la oscura en *M. angustirostris*, mientras que en *Z. californianus* sucede lo inverso; correspondiendo al invierno la formación de la banda clara (de intensa alimentación y crecimiento) y en verano la banda oscura (durante la alimentación menos intensa, Elorriaga-Verplancken, 2009).

En un estudio utilizando vibrisas de *M. angustirostris* se determinó que las tasas de crecimiento de este tejido son más rápidas antes de la muda (D. Auriolles, *com. pers.*<sup>2</sup>) lo que corresponde con la mayor fusión de calcosferitas y formación de la banda clara, hipermineralizada en el diente durante el primer viaje de alimentación en primavera.

Debido a que durante el periodo reproductivo, altamente demandante para la especie, los machos adultos suelen perder entre 7 y 10 Kg diarios en aproximadamente 80 días (Gallo-Reynoso, 2005); tiempo en el cual se encuentran en abstinencia absoluta, utilizando sus reservorios de grasa y proteína para mantenerse, se esperaría un enriquecimiento en la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  en la banda opaca de cada capa de dentina, como respuesta al estrés nutricional anual al que se ven expuestos los animales. Incluso presentando valores de  $\delta^{15}\text{N}$  más altos que los de la banda clara, principalmente por estar enriqueciéndose su señal isotópica por el catabolismo de las proteínas de su cuerpo y no por el alimento asimilado (Hobson *et al.*, 1993).

En los perfiles isotópicos intra-anales de seis machos de *M. angustirostris* descritos en el presente estudio, no se detectó el efecto del estrés nutricional en los individuos; aunque de manera general, se presentó la tendencia a ser mayores los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de la banda clara con respecto a la banda oscura, principalmente durante las fases subadulta y adulta de los animales.

---

<sup>2</sup>Laboratorio de Ecología de Pinnípedos. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN), Apdo. Postal 592, C. P. 23096, La Paz, B.C.S., México.

Aunque los machos adultos presenten mayores gastos energéticos que las otras clases de edad durante su reproducción, que pudieran hacer más evidentes los enriquecimientos en  $\delta^{15}\text{N}$ , la composición del cuerpo (masa corporal) pudo influenciar en los patrones de utilización de lípidos y en última instancia en la duración de los periodos de ayuno, como lo sucedido con crías de esta especie en el periodo post-lactancia (Noren *et al.*, 2003).

De manera individual las señales de ambos isótopos en ciertos años, fueron más altos en una banda que en otra, mientras que en otros años sucedió lo contrario, o las diferencias entre los valores isotópicos de las bandas fueron mínimas. En todos los casos las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

La posible explicación a la falta de detección del enriquecimiento de  $\delta^{15}\text{N}$  en las bandas de dentina debido a la abstinencia alimentaria que experimenta *M. angustirostris* durante su periodo reproductivo, podría ser: 1) que realmente el enriquecimiento en el isótopo de nitrógeno no ocurre, debido a que el animal durante el ayuno, experimenta las fases de estrés nutricional 1 y parte de la 2, por lo que utiliza las reservas lipídicas del cuerpo y no las de proteínas (Young y Scrimshaw, 1971; Saudek y Felig, 1976; Goodman *et al.*, 1984; Castellini y Rea, 1992) o 2) que por otro lado, es posible que el enriquecimiento si exista, pero que sea únicamente detectable en aquellos tejidos metabólicamente activos como la sangre, en los que los efectos se registren mucho más rápidamente (Tieszen *et al.*, 1983; Cherel *et al.*, 2005).

En el caso de  $\delta^{13}\text{C}$  no se encontró un patrón consistente con la posible influencia del estrés nutricional a lo largo de la vida de los animales, como ya se ha reportado por otros autores (Hobson *et al.*, 1993; Kurlle y Worthy, 2001).

Aunque la dentina, tiene la suficiente resolución para permitir la exploración anual de la alimentación de un individuo, no parece tenerla para detectar cambios entre secciones de un mismo año, por lo que es necesario obtener muestras más finas que correspondan a meses, o usar un tejido más apropiado como las vibrisas, o

la sangre (plasma y células sanguíneas) y plumas (Cherel *et al.*, 2005), en los que se ha confirmado su uso para estos efectos.

#### 9.4 Nivel Trófico

Los niveles tróficos corresponden a un ordenamiento jerárquico de las relaciones alimenticias dentro de un ecosistema (Trites, 2001), donde la posición trófica de un organismo dentro de la red trófica está determinada por sus hábitos alimentarios (Pauly, *et al.*, 1998). En la mayoría de pinnípedos, los niveles tróficos presentan un rango que va de 3.8 a 4.7 (Pauly, *et al.*, 1998; Aurióles-Gamboa y Camacho-Ríos, 2007; Porras-Peters *et al.*, 2008; Aurióles *et al.*, en prensa; Páez-Rosas y Aurióles-Gamboa, aceptado).

En el caso del elefante marino del norte de la colonia de San Benito, el nivel trófico estimado es de 4.6, ubicándolo en la cadena trófica como un carnívoro secundario-terciario (Mearns *et al.* 1981), similar al nivel trófico estimado para el elefante marino del sur (Cherel *et al.*, 2008). En ambos trabajos, el nivel trófico de las especies fue estimado mediante el algoritmo de Vander-Zanden, *et al.*, (1997), el cual toma de referencia los valores isotópicos de  $\delta^{15}\text{N}$  del zooplancton (consumidor primario) y con el cual se ha probado que existe una menor variancia de error al estimar el nivel trófico de las especies (Vander-Zanden y Rasmussen, 2001).

Cuando se utilizó como base de la red trófica a la materia orgánica particulada (nivel trófico 1) con el algoritmo de Post (2002), el nivel trófico estimado de *M. angustirostris* fue de 4.2, muy semejante a las otras estimaciones. En ambos resultados obtenidos en el presente estudio, se utilizó el valor de fraccionamiento isotópico promedio de  $\sim 3.4\text{‰}$ , a lo largo de la cadena trófica hasta depredadores tope propuesto Minagawa y Wada (1984), por lo que podría existir cierto sesgo debido a que no se incorpora la información exacta del fraccionamiento isotópico que existe entre cada nivel trófico, el cual varía con la presa y el tipo de tejido del depredador (Lesage *et al.*, 2001).

Schoeninger y De Niro (1984) sugieren un valor de enriquecimiento isotópico de 3 ‰ para  $\delta^{15}\text{N}$  entre la dieta y el colágeno del hueso y del diente. Este valor aplicado al dato promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  de *M. angustirostris* (18.67 ‰) permite estimar el valor de  $\delta^{15}\text{N}$  de su presa; el cual, para el elefante marino del norte de Islas San Benito sería de 15.67 ‰, equivalente a presas de niveles tróficos medios-altos. Este valor teórico de  $\delta^{15}\text{N}$  de la presa, corresponde con el calculado para una de las principales presas que constituye la dieta de este fócido, como es la merluza del Pacífico (*M. productus*), cuyos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  están alrededor de 15.6 ‰, para la región del Pacífico Nororiental de México (J. Camalich, *com. pers.*<sup>3</sup>).

La dieta de *M. angustirostris* descrita por estudios de contenido estomacal, incluye presas de un nivel trófico medio-alto como *M. productus* (3.98), *Apristurus brunneus* (4.02), *Sebastes polyspinis* (3.78), *Squalus acanthias* (3.89). Mearns *et al.*, (1981) cataloga estas especies como carnívoros primarios-secundarios por consumir peces, cefalópodos y crustáceos entre otros.

## 9.5 Amplitud Trófica

La medida del nicho isotópico de animales puede ser una alternativa poderosa a los métodos convencionales de investigación del nicho ecológico (Newsome *et al.*, 2007). El concepto isotópico básico, es que la composición química de un animal es directamente influenciada por las presas que consume. De esta manera, los consumidores son enriquecidos en  $\delta^{15}\text{N}$  relativo a su dieta y por ende las medidas de las razones isotópicas de  $^{15}\text{N}$  y  $^{14}\text{N}$  sirven como indicadores de la posición trófica del consumidor (Vanderklift y Ponsard, 2003).

La señal de  $\delta^{13}\text{C}$  por el contrario, varía ligeramente a lo largo de la cadena trófica y en los ambientes marinos, estos valores son principalmente utilizados para indicar el hábitat preferencial de los depredadores (Cherel y Hobson, 2007; Cherel *et al.*, 2007).

---

<sup>3</sup>Departamento de Oceanología. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN), Apdo. Postal 592, C. P. 23096, La Paz, B.C.S., México.

Se han propuesto dos procedimientos para determinar la amplitud trófica y definir poblaciones especialistas o generalistas del tipo A (que tienden a ser generalistas) o del tipo B (que tienden a ser especialistas). Esto medido a través del tamaño de la varianza de las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de las especies, mediante la determinación de la variabilidad intra-individual e inter-individual (Bearhop *et al.*, 2004; Newsome *et al.*, 2007).

De tal manera que valores  $< 1\text{‰}$  de variabilidad inter-individual indicarían poblaciones especialistas, mientras que valores  $> 1\text{‰}$  corresponderían a poblaciones generalistas. En el caso de ser generalistas se puede diferenciar entre generalistas tipo A: si los valores son  $> 1\text{‰}$  y generalistas tipo B: si los valores son  $< 1\text{‰}$ , indicando tendencias hacia ser generalistas y especialistas respectivamente (Bearhop *et al.*, 2004, Jaeger *et al.*, 2009). En el primer paso para determinar la amplitud del nicho trófico, se emplea un valor por cada individuo, mientras que en la segunda parte, se emplean varios datos de un mismo individuo (Jaeger *et al.*, 2009).

Bearhop *et al.* (2004) indican que las poblaciones especialistas, deberían presentar tamaños de varianza pequeños debido a que se alimentaron: 1) de un solo tipo de presas en un solo ambiente, 2) de proporciones ampliamente diferentes de cada uno de sus presas a través del tiempo, 3) en el mismo número de presas de similar nivel trófico y 4) en un rango de áreas geográficas reducido. Además de considerarse la variabilidad en la condición fisiológica de las poblaciones o individuos a través del tiempo y el fraccionamiento entre la dieta y el tejido.

Con base en los criterios propuestos por Bearhop *et al.* (2004) y Newsome *et al.* (2007), *M. angustirostris* es un depredador de tipo especialista, ya que la varianza en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  así lo sugieren ( $\sigma^2 = 0.9 \text{‰}$  en ambos isótopos), indicando que se alimentan en ambientes definidos y de ciertas presas en especial (o de similar nivel trófico) a lo largo de su vida.

Como se determinó en el apartado anterior, presentado en este estudio sobre la variación de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre clases de edad y sexo, los elefantes marinos del norte tienen una estrategia de alimentación más bien mesopelágica, en la que por lo

general a partir de los dos años, todos los individuos bucean a las mismas profundidades (Le Boeuf, 1994) y los realizan aparentemente en los mismos sitios año tras año, por lo que cabe pensar que sea un depredador con hábitos especialistas; consumiendo probablemente varias presas (tal y como lo indican los estudios de contenido estomacal) pero de similar nivel trófico, o en proporciones diferentes a lo largo del tiempo, de acuerdo a su disponibilidad en el ambiente (Le Boeuf y Crocker, 2005).

En los perfiles ontogénicos descritos en este estudio se notó que de manera individual, los elefantes marinos del norte se alimentan en un mismo nivel trófico toda su vida y que al parecer suelen regresar a los mismos sitios de alimentación año tras año.

Considerando que de manera general se presentan diferencias isotópicas en  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre las clases de edad y sexo de los individuos, determinado principalmente por diferencias en cuanto a las estrategias de alimentación, zonas preferenciales de alimentación y la misma capacidad fisiológica de los individuos durante las distintas fases de edad, se estimó la amplitud del nicho trófico por clase de edad y sexo específica.

Resultando ser individuos de hábitos especialistas durante la fase de cría, consistente con el consumo exclusivo de leche materna durante esta etapa temprana de vida de los animales (Hobson y Welch, 1992; Hobson *et al.*, 1997). Las hembras juveniles son consideradas generalistas tipo B, es decir que tienden a ser especialistas, ya que se estarían alimentando en un amplio rango de especies de distinto nivel trófico ( $\delta^{15}\text{N}$ ) probablemente a la misma latitud geográfica ( $\delta^{13}\text{C}$ ) o en los mismos ambientes.

Esto es un tanto contradictorio con lo que se demostró al graficar los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de hembras juveniles además de la información revelada mediante la descripción de las rutas migratorias de individuos de este sexo (Le Boeuf *et al.*, 2000). En el caso de las hembras adultas que según lo estimado son individuos de hábitos especialistas, también surge esta problemática, ya que se ha documentado

que animales de este sexo podrían tener 3 estrategias de alimentación (Simmons *et al.*, 2007), referido a sus rutas migratorias y valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (este estudio).

Los machos juveniles son considerados de hábitos especialistas al igual que los subadultos, los cuales en particular fueron la clase de edad que presentó el tamaño de variancia de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  más pequeña. Esto es consistente con los resultados encontrados en este estudio en el que se indica que estos animales podrían presentar una alimentación bentónica en zonas costeras y en el caso de los subadultos, los análisis de contenido estomacal han determinado que existe una mayor ocurrencia de presas que los machos adultos también consumen o de las que hembras no se alimentan (Antonelis *et al.*, 1994).

En la fase adulta los machos fueron considerados generalistas tipo B, mientras que las hembras presentaron hábitos especialistas. Sugiriendo que los machos presentan varias estrategias de alimentación, consumiendo diversas especies de distinto nivel trófico en un solo ambiente, mientras que las hembras se alimentan de pocas presas de similar nivel trófico y en un ambiente reducido, es decir teniendo una única estrategia de alimentación.

Esta contradicción de la amplitud trófica estimada de manera específica para cada clase de edad y sexo con los resultados obtenidos en este estudio así como del conocimiento sobre la ecología trófica de este fócido obtenida por otros métodos, podría deberse 1) por el reducido tamaño de muestra accesible en cada caso o 2) por la amplia variabilidad inter-individual que ocurre en esta especie dentro de cada sexo, la cual genera que al analizar en conjunto, individuos de una misma clase de edad o sexo se produzca una interpretación incompleta en cuanto a la información resultante. De tal manera que cuando se decida estimar la amplitud trófica de alguna especie, es necesario considerar todas las variables que podrían influenciar en los resultados, así como también, analizarlos de manera conjunta con la información relevante sobre la ecología trófica del animal.

Finalmente, se ha comprobado la eficiencia de la estimación de la amplitud trófica de las especies de manera general mediante el cálculo del tamaño de la

variancia de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ , ya que ha permitido confirmar las tendencias especialistas de varios otáridos como el lobo marino de California (*Z. californianus*), el lobo fino de Guadalupe (*A. townsendi*), (Pablo-Rodríguez, 2009) y el lobo marino de Galápagos (*Z. galapagoensis*), (Páez-Rosas y Auriol Gamboa, aceptado) en los que se determinó sus hábitos de tipo especialista mediante el análisis de excretas.

## 9.6 Análisis isotópico en colágeno óseo

El análisis isotópico en el colágeno óseo se ha usado para construir los hábitos alimentarios generales de las especies, debido principalmente a la gran escala temporal que integra este tejido, además de ser el que mejor se preserva naturalmente; permitiendo de esta manera tener acceso a la información relacionada a la mayor parte de la vida de los organismos (Hobson y Clark, 1992; Ambrose y Norr, 1993). Este tejido presenta una tasa de recambio o remodelación que varía en tiempo de un sitio a otro, siendo la remodelación del hueso trabecular o esponjoso entre 5 a 10 veces más rápido que el hueso cortical o denso (Ortner y Turner, 2003).

Estudios de alimentación muestran que los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno óseo de mamíferos, reflejan los valores promedios de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de todas las proteínas consumidas en los últimos años de vida del animal (Ambrose y Norr, 1993). Siendo el  $^{15}\text{N}$  y el  $^{13}\text{C}$  del colágeno, enriquecido entre 2 a 4‰ en comparación con las proteínas de la dieta (Schoeninger y De Niro, 1984; Bocherens y Drucker, 2003).

Dado que un animal puede presentar señales isotópicas del colágeno óseo diferentes en cada parte de su cuerpo, debido a que las tasas de recambio difieren de un hueso a otro y pueden ser alteradas por demandas metabólicas o mecánicas (Huja *et al.*, 2006); se comparó los valores obtenidos de la mandíbula y maxila de cada cráneo de *M. angustirostris* de donde se extrajeron las muestras para este estudio. La señal de  $\delta^{15}\text{N}$  estuvo bien correlacionada, mostrando correspondencia entre los valores de ambos huesos de un animal; sin embargo, esta correlación no se mostró en el caso del  $\delta^{13}\text{C}$ .

Bioensayos con diferentes tejidos óseos han evidenciado diferentes componentes de la dieta (Ambrose y Norr, 1993; Tiezen y Fagre, 1993). Por lo que podría asociarse que esta falta de relación entre los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de la mandíbula y maxila de un mismo cráneo, podría deberse a la diferente tasa de remodelación que experimenta cada hueso, lo cual determina composiciones isotópicas distintas en cada uno de ellos sin corresponder entre sí.

Las tasas de remodelación distintas en los huesos, podrían explicarse a su vez, como diferencias en cuanto a la densidad ósea (cortical densa o porosa y trabecular fina o gruesa) en diferentes parte del hueso, así como en el grado de mineralización de los mismos, los cuales determinan la composición de los huesos y regulan las tasas de recambio (Kingsmill, *et al.*, 2007).

La mandíbula es altamente mineralizada y su tasa de renovación ósea es mucho menor que la de los huesos post-craneales. Lo cual sugiere que las diferencias estructurales entre los huesos, principalmente variaciones en el grado de vascularización, podrían ser el factor clave que regule la tasa de renovación ósea (Kingsmill, *et al.*, 2007).

Huja, *et al.*, (2006), demostraron que la tasa de remodelación del proceso alveolar de la mandíbula es mayor que el de la maxila de perros adultos; mientras que otro estudio mostró evidencia de que la tasa de recambio del proceso alveolar de la mandíbula, es 10 veces mayor que en la diáfisis media de la tibia de caninos (Tricker *et al.*, 2002).

Además de las diferencia en cuanto a la tasa de renovación de la maxila y mandíbula del cráneo, que pueden determinar diferencias o similitudes en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre ambos huesos, es necesario considerar los efectos secundarios de fraccionamiento isotópico, que determinan la asimilación de nitrógeno y carbono en los tejidos o en diferentes partes de un mismo tejido; variando de un tejido a otro, no solo debido a diferencias en la actividad metabólica, sino también por diferencias en la síntesis de proteínas y o el contenido de aminoácidos (Kurle y Worthy, 2002).

Se conoce la aparente correlación entre las tasas de renovación y la actividad metabólica específica de los tejidos (Waterlow *et al.*, 1978; Tieszen *et al.*, 1983; Simon, 1989). Además de existir evidencia de que las proteínas individuales dentro de cada tejido, tienen tasas de renovación características dependiendo de las funciones metabólicas que realicen (Waterlow *et al.* 1978).

Las diferencias en el contenido de aminoácidos y la composición isotópica, pueden explicar en gran parte la variación entre las diferentes proteínas (Hedge *et al.*, 2005). Tejidos que tengan la misma composición de aminoácidos deberían presentar similar composición isotópica, a menos que un mismo aminoácido tenga diferentes valores isotópicos en cada proteína (Connell *et al.*, 2001). Una forma de probarlo, es mediante la comparación de los valores isotópicos de ambos tejidos (Connell *et al.*, 2001); como también, en este caso, mediante la comparación de valores isotópicos de huesos con diferente tasa de renovación.

La información sobre las diferencias en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de los aminoácidos de una misma proteína son muy limitados. Sin embargo se determinó que una composición de aminoácidos distinta, puede explicar cuantitativamente las diferencias en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de los tejidos comparados (Connell *et al.*, 2001). En el caso de  $\delta^{15}\text{N}$  se sabe en general, que existe una menor variación de los valores isotópicos de los diferentes aminoácidos (Hare *et al.*, 1991).

Lo anterior podría explicar las diferencias entre los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de la maxila y mandíbula del cráneo de *M. angustirostris*. Mientras que en  $\delta^{15}\text{N}$ , la similitud en los valores de ambas estructuras, indicarían que la actividad metabólica del nitrógeno tiene similar comportamiento en ambos huesos; sugiriendo a la vez, que este isótopo es más ampliamente afectado por procesos metabólicos en comparación con el carbono (Connell *et al.*, 2001), permitiendo utilizarlo como un mejor indicador trófico.

Concluyendo de esta manera que a pesar de que la mandíbula pueda presentar una tasa de remodelación distinta a la maxila, determinado principalmente por la composición ósea de cada hueso; la actividad metabólica, la síntesis y

recambio de las proteínas es similar en ambas estructuras, lo que hace válido la utilización de la información isotópica de cualesquiera de los huesos para comparaciones isotópicas entre individuos de la misma especie.

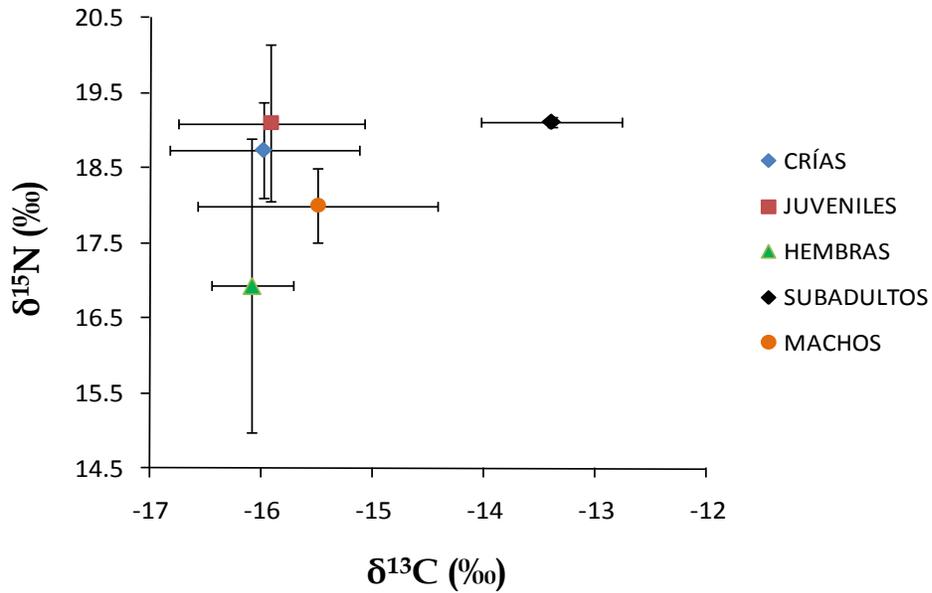
#### **9.6.1 Variaciones en $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el colágeno óseo de *Mirounga angustirostris* entre clases de edad.**

La principal utilidad del análisis isotópico en huesos de mamíferos marinos está relacionada a la investigación de cambios históricos en la ecología trófica de los organismos. Determinando las zonas potenciales de alimentación actuales de varias especies de pinnípedos (Burton y Koch, 1999), así como también cambios en los hábitos alimentarios de las especies a lo largo de décadas (Burton *et al.*, 2001; Hirons *et al.*, 2001), que pudieran estar reflejando cambios en el ecosistema (Newsome *et al.*, 2007; Christensen y Richardson, 2008), o bien su relación con el desarrollo de las pesquerías (Drago *et al.*, 2009). Inclusive detectar episodios dentro de la vida de los individuos, como el periodo de lactancia en ciertos otáridos (Newsome *et al.*, 2006).

Debido a que los cráneos con los que se contó en este estudio, revelaron información sobre el periodo comprendido entre 1995 al 2001, los análisis realizados son dirigidos a reforzar lo encontrado con el colágeno dental más no a analizar variaciones a lo largo del tiempo.

Las firmas isotópicas del colágeno óseo que presentan los individuos de *M. angustirostris* de las distintas categorías de edad y sexo, corresponden en parte con lo encontrado en el colágeno dental de casi todos, los mismos individuos analizados anteriormente en este estudio.

Las crías, juveniles y subadultos presentan valores de  $\delta^{15}\text{N}$  muy semejantes, sugiriendo que se alimentan de presas de un nivel trófico similar y más alto que los individuos adultos de ambos sexos (Fig. 23).



**Figura 23.** Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (promedio  $\pm$  desviación estándar en ‰) del colágeno óseo de 18 individuos de *Mirounga angustirostris* recolectados en Islas San Benito y Magdalena. Agrupados por categoría de edad específica.

En el caso de las crías estaría actuando el efecto de la lactancia, el cual como se describió anteriormente enriquece los valores de este isótopo (Hobson y Sease, 1998; Newsome *et al.*, 2006); mientras que el alto valor de  $\delta^{15}\text{N}$  en juveniles y subadultos, en lugar de corresponder con un consumo de presas de más alto nivel trófico, podría explicarse de mejor manera, si se analiza en conjunto con el  $\delta^{13}\text{C}$ , como un reflejo de sus zonas de alimentación, mismas que podrían localizarse a latitudes medias. Lo cual es ampliamente explicado por el efecto latitudinal sobre el enriquecimiento y/o decremento de los isótopos de N y C (Burton y Koch, 1999; Auriolles *et al.*, 2006).

Por su parte, las señales de  $\delta^{13}\text{C}$  de machos subadultos mostraron ser claramente diferentes a las demás clases de edad y sexo, sugiriendo que estos individuos se están alimentando en zonas más costeras y realizando un tipo de alimentación bentónica, a diferencia de los juveniles y machos adultos, que aunque se encuentren a las mismas latitudes, pudieran estarse alimentando en ambientes

oceánicos, presentando una alimentación pelágica en juveniles, y en ambientes oceánicos y costeros en el caso de machos adultos.

Cabe mencionar que no se pudo discriminar el sexo de los individuos juveniles, por lo que si se relaciona estos resultados con los encontrados en el colágeno dental presentados en el apartado anterior de este estudio (ver figura 17), podría sugerirse que los juveniles representados en esta muestra corresponden a individuos del sexo femenino.

Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de hembras adultas sugieren un tipo de alimentación costera–pelágica y a latitudes altas y medias, similar al de machos adultos que a su vez presentan tendencia a una alimentación bentónica y principalmente a latitudes medias. Los valores más altos de  $\delta^{15}\text{N}$  en machos a comparación de las hembras, indican además, un consumo de presas de nivel trófico más alto en individuos del sexo masculino.

Resultados similares fueron reportados por Burton y Koch (1999) al analizar el colágeno óseo de adultos de *M. angustirostris*; los cuales indican que a pesar de encontrarse una diferencia marcada en cuanto a las zonas de alimentación preferenciales para cada sexo ( $\delta^{13}\text{C}$ ), las diferencias pequeñas en  $\delta^{15}\text{N}$  entre machos y hembras (0.1‰), indican que individuos de ambos sexos pueden alimentarse en medias y altas latitudes del Pacífico Nororiental.

Se debe resaltar que el tamaño de muestra de colágeno óseo analizado para cada clase de edad y sexo es pequeño en la mayoría de los casos: Crías (n=3), Juveniles (n=10), Hembras (n=2), Machos subadultos (n=2) y machos adultos (n=5). Por lo que las diferencias encontradas entre los distintos grupos no fueron estadísticamente significativas, a pesar de mostrar esa tendencia. Es así que los resultados aquí presentados pudieran estar sobreestimados, subestimados o en su defecto, no ser lo suficientemente representativos del comportamiento de ecología trófica de la especie.

### 9.6.2 Comparación isotópica entre tejido óseo y dentina

Los huesos tienen el problema de ser afectados por procesos tafonómicos, lo cual podría generar que el N y el C analizado no refleje la información original del hueso al tiempo de muerte del animal (Ortner y Turner, 2003). Sin embargo, debido a que los cráneos fueron obtenidos a partir de organismos frescos varados en las playas, estos procesos pudieron no haber afectado a la muestra. Además la relación C/N calculada, indicó que el grado de conservación de los huesos es aceptable, por encontrarse dentro del rango de entre 2.9 y 3.6 ‰ características de proteínas no alteradas (DeNiro y Epstein 1978; Ambrose, 1990).

Siguiendo la misma línea de análisis descrita en la sección anterior, debido a las tasas de recambio diferenciales que experimenta el tejido óseo (varios años), así como la depositación de dentina en capas anuales, se esperarían diferencias en las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre ambos tejidos. Como también podrían darse por la distinta actividad metabólica de los tejidos y o efectos secundarios de fraccionamiento isotópico (Kurle y Worthy, 2002).

Cabe mencionar, que la dentina es un tejido metabólicamente inerte, es decir, que una vez que la capa de crecimiento se forma y deposita, la información integrada en ese año no sufre alteración, mientras que la nueva capa que se forma se va depositando junto a la anterior. De esta manera, cada capa de crecimiento constituye un registro cronológico cerrado de la ontogenia alimentaria de un individuo (Mendes *et al.*, 2007). En el caso del hueso, se dice que sufre una “remodelación”, ya que ocurren patrones de reabsorción y nueva depositación de tejido, el cual es mantenido en el tiempo (Hedge *et al.*, 2005), pudiendo reflejar varios años de la vida de un animal.

Al comparar el valor promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  del diente junto al valor de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de la mandíbula de cada animal de *M. angustirostris*, únicamente se encontraron diferencias en  $\delta^{13}\text{C}$ , indicando una posible diferenciación en cuanto a la composición de aminoácidos de ambos tejidos, o debida también a las diferencias en las tasas de recambio de cada tejido. Sin embargo al no encontrarse diferencias en

las señales de  $\delta^{15}\text{N}$ , se podría argumentar que la actividad metabólica, síntesis y recambio de las proteínas es similar en los dientes y en la mandíbula de los animales. Indicando el complejo papel que juega el nitrógeno en el metabolismo de los organismos. Todo esto soportado con la información documentada previamente de este estudio.

### **Tasa de recambio isotópico del tejido óseo**

Es conocido que la tasa de recambio isotópica varía con la tasa metabólica de las proteínas, mismas que son presentadas como el porcentaje de proteína que es sintetizado por día en los tejidos y que está de acuerdo a la tasa de recambio de los mismos (Kurle y Worthy, 2002). Se piensa que la tasa de recambio de las proteínas tiene efecto en la tasa de recambio isotópico, por lo tanto este cambio va a reflejar el periodo de incorporación isotópica (Tieszen *et al.*, 1983; Hobson y Clark, 1992).

Una vez determinado, que la actividad metabólica de la dentina y el tejido óseo no difieren, se utilizó los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de ambos tejidos para estimar el tiempo de integración o tasa de recambio isotópico del tejido óseo, toda vez que este isótopo resultó ser un mejor indicador trófico.

Mediante la relación de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  del colágeno de la maxila con el valor promedio de  $\delta^{15}\text{N}$  obtenido de la integración de las distintas capas de dentina de un mismo animal para el total de los animales, se determinó que la máxima relación entre las señales isotópicas de ambos tejidos, se obtiene al confrontar la señal del hueso con la señal promedio de las últimas cuatro capas de dentina ( $r=0.991$ ,  $P= 0.0001$ ). Sugiriendo de esta forma, que el tejido óseo de la maxila de *M. angustirostris* probablemente integra la información isotópica de los últimos cuatro años de vida del animal.

Este ejercicio fue posible ya que se tiene acceso a la información de cada año de vida del animal mediante el muestreo de cada capa de dentina. Newsome *et al.*, (2006), determinaron que la tasa de recambio óseo en la parte superior del cráneo en crías de *Z. Californianus* ocurre entre los 10 y 12 meses de nacido y que esta tasa de

renovación es menor en crías de *C. ursinus*, en los cuales integra aproximadamente 8 meses de vida.

## 10. CONCLUSIONES

- ❖ El perfil ontogénico alimentario del elefante marino del norte muestra variaciones en las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  a lo largo de la vida del animal, presentando diferencias entre sexos y entre individuos de un mismo sexo; que son interpretadas como cambios en los hábitos de alimentación durante las distintas fases de edad del individuo, así como la probable diversificación intrasexual de estrategias alimentarias.
- ❖ Las valores isotópicos anuales de  $\delta^{13}\text{C}$  entre cada animal fueron muy estables, lo que sugiere una fidelidad a los sitios de alimentación.
- ❖ El enriquecimiento en la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  y disminución en  $\delta^{13}\text{C}$  presente entre la capa 0, o supuesta capa fetal y el valor teórico promedio de hembras adultas, corresponde con un aparente fraccionamiento isotópico entre crías y madres ( $\delta^{15}\text{N} = 1.87 \text{ ‰}$ ;  $\delta^{13}\text{C} = -0.44 \text{ ‰}$ ) y sugiere a la vez, que la primera capa que se forma en el diente permanente de *M. angustirostris* refleja el periodo de intensa lactancia que experimenta la especie.
- ❖ En juveniles, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  difirieron entre sexos; sugiriendo que desde edades muy tempranas podría existir una segregación de los sitios de alimentación y la definición de sus estrategias alimentarias.
- ❖ Las señales de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  indican tres tipos de alimentación en hembras (costera-bentónica, costera-pelágica y oceánico-pelágica), en altas latitudes las adultas y en un rango espacial (longitudinal) menos extenso que las juveniles, cuya alimentación se concentra en latitudes medias. En machos, la alimentación es principalmente costera-bentónica durante toda la vida de los animales, además de presentar los adultos, una alimentación costera-pelágica en altas y medias latitudes.

- ❖ Las diferencias estadísticas en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre sexos, indican que los machos a diferencia de las hembras, se alimentan en zonas más costeras, mientras que las diferencias en  $\delta^{15}\text{N}$ , aunque no significativas, sugieren que los machos, probablemente se alimenten de presas de mayor nivel trófico en altas latitudes, donde los valores isotópicos bajos desde la base de la trama trófica equiparan los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de ambos sexos.
- ❖ La metodología utilizada para muestrear subcapas de dentina resultó poco sensible para detectar periodos de alimentación de distinta intensidad dentro de un mismo año; por lo que se recomienda experimentar con tejidos metabólicamente activos como la sangre, que permiten la detección de cambios en la señal isotópica a corto plazo.
- ❖ El nivel trófico (NT) derivado de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , ubica a *M. angustirostris* dentro de la cadena trófica, como un carnívoro secundario terciario (NT= 4.6). Mientras que la amplitud trófica estimada, muestra a la especie como un depredador de tipo especialista.
- ❖ A pesar de presentar la dentina y el tejido óseo, tasas de renovación distintas, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  no difirieron entre ellos, indicando que la actividad metabólica, síntesis y recambio de las proteínas es similar en los dientes y en la mandíbula de los animales. Además se determinó que el valor isotópico de  $\delta^{15}\text{N}$  de la mandíbula del cráneo, probablemente representa la integración de los últimos cuatro años de vida del animal.

## 11. LITERATURA CITADA

- Abbott, C. y F. J. Verstraete. 2005. The Dental Pathology of Northern Elephant Seals (*Mirounga angustirostris*). *Journal of Comparative Pathology*. Vol. 132, 169–178.
- Ambrose, S.H. 1990. Preparation and characterization of bone and tooth collagen for isotopic analysis. *Journal of Archaeological Science* 17: 431–451.
- Ambrose, S.H. 1993. Isotopic analysis of paleodiets: methodological and interpretive considerations. *En: Investigations of ancient human tissue*. Edited by M.K. Sanford. Gordon and Breach, Langhorne, Pa. 59–130 pp.
- Ambrose, S. H. y L. Norr. 1993. Experimental evidence for the relationship of the carbon isotope ratios of whole diet and dietary protein to those of bone collagen and carbonate. *En: Lambert, J. B. y G. Grupe. 1993. Prehistoric human bone, Archaeology at the Molecular level*. Eds. Springer. Berlin Heidelberg, New York. 1–37 pp.
- Altabet, M. A., Francois, R., Murray, D. W. y Prell, W. R. 1995. Climate-related variations in denitrification in the Arabian Sea from sediment  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  ratios. *Nature, Londres*. 373: 506-509.
- Altabet, M. A., Pilskalns, C., Thunell, R., Pride, C., Sigman, D., Chavez, F. y R. Francois. 1999. The nitrogen isotope biogeochemistry of sinking particles from the margin of the Eastern North Pacific. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 46 (4): 655-679.
- Altabet, M. A. 2001. Nitrogen isotopic evidence for micronutrient control of fractional  $\text{NO}_3$  utilization in the equatorial Pacific. *Limnology and Oceanography*. 46(2): 368-380.
- Antonelis, G. A. y H. C. Fiscus. 1980. The Pinnipeds of the California Current. *CalCOFI Rep.* 21: 68-78.

- Antonelis, G. A., Lowry, M. S., De Master, D. P. y C. H. Fiscus. 1987. Assessing northern elephant seal feeding habits by stomach lavage. *Marine Mammal Science* 3: 308–322.
- Antonelis, G. A., Lowry, M. S., Fiscus, C. H., Stewart B. S. y R. L. De Long. 1994. Diet of the northern elephant seal. Pages: 211–223. *En:* B. J. Le Boeuf and R. M. Laws, editors. *Elephant seals: population ecology, behavior, and physiology*. University of California Press, Berkeley, California, USA.
- Aurioles-Gamboa, D. 1988. Behavioral Ecology of California sea lion in the Gulf of California. Tesis doctoral, Universidad de California, Santa Cruz. 175 pp.
- Aurioles-Gamboa, D., Koch, P. y B. J. Le Boeuf. 2006. Differences in foraging ecology of Mexican and California elephant seals: Evidence from stable isotopes in pups. *Marine Mammal Science*. 22 (2): 1-13.
- Aurioles-Gamboa, D. y F. Camacho-Ríos. 2007. Diet and Feeding Overlap of Two Otariids, *Zalophus californianus* and *Arctocephalus townsendi*: Implications to Survive Environmental Uncertainty. *Aquatic Mammals*. 33: 315-326.
- Aurioles-Gamboa, D., Elorriaga-Verplancken, F. y C. Hernández-Camacho. En prensa. The current population status of Guadalupe fur seal (*Arctocephalus townsendi*) on the San Benito Islands, Mexico. *Marine Mammal Science*.
- Bailey, K. M., Francis, R. C. y P.R. Stevens. 1982. The life history and fishery of Pacific whiting, *Merluccius productus*. *CalCOFI Rep.* 23: 81-98.
- Bearhop, S., Adams, C., Waldrons, S., Fuller, R. A. y H. Macleod. 2004. Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *British Ecological Society, Journal of Animal Ecology*. 73, 1007–1012.
- Bidigare, R. R., Fluegge, A., Freeman, K. H., Hanson, K. L., Hayes, J. M., Hollander, Jasper, J. D. King, L. L., Laws, E. A., Milder, J., Millero, F. J., Pancost, R., Popp, B. N., Steinbergand, P. A. y Wakeham, G. 1997. Consistent fractionation

- of  $^{13}\text{C}$  in nature and in the laboratory: Growth-rare effects in some haptophyte algae. *Global Biogeochemical Cycles*. 11: 279-292.
- Bligh, G.E., y J. W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37(3): 911-917.
- Bradshaw, C. J. A., Hindell, M. A., Sumner, M. D. y Michael, K. J. 2004. Loyalty pays: potential life history consequences of fidelity to marine foraging regions by southern elephant seals. *Animal Behavior*. 68, 1349–1360.
- Briggs, K. T. 1974. Dentition of the northern elephant seal. *Journal of Mammalogy*, 55, 158-171.
- Bolnick, D. I., Svanbäck, R., Fordyce, J. A., Yang, L. H., Davis, J. M., Hulse, C. D. y M. L. Forister. 2003. The ecology of individuals: incidence and implications of individual specialization. *American Naturalist*. 161 (1): 1-28.
- Bocherens, H. y D. Drucker. 2003. Trophic level isotopic enrichment of carbon and nitrogen in bone collagen: Case studies from recent and ancient terrestrial ecosystems. *International Journal of Osteoarchaeology*. 13, 46–53.
- Boswall, J. 1978. The birds of the San Benito Islands, lower California, Mexico. *Bristol Ornithology*. 11: 23-30.
- Boyd, I. L., Arnborn, T. A. y M. A. Fedak. 1994. Biomass and energy consumption of the south Georgia stock of southern elephant seals. *En: Elephant seals: population ecology, behavior, and physiology*. B. J. Le Boeuf and R. M. Laws (Eds.). University of California Press, Berkeley, California, USA. 91-117.
- Burton, R. K. y P. L. Koch. 1999. Isotopic tracking of foraging and long-distance migration in northeastern Pacific pinnipeds. *Oecologia*. 119: 578-585.
- Burton, R. K., Snodgrass, J. J., Gifford-Gonzalez, D., Guilderson, T., Brown, T. y P. Koch. 2001. Holocene changes in the ecology of northern fur seals: insights from stable isotopes and archaeofauna. *Oecologia*. 128: 107–115.

- Caulfield, M. P. y R. E. Reitz. 2004. Biochemical markers of bone turnover and their utility in osteoporosis. MLO: Medical Laboratory Observer. En línea – Abril; 36(4):34-7.
- Castellini, M. A. y L. D. Rea. 1992. The biochemistry of natural fasting at its limits. *Experientia*. 48:575–582.
- Champagne, C. D., Houser, D. S. y D. E. Crocker. 2006. Glucose metabolism during lactation in a fasting animal, the northern elephant seal. *The American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 291: R1129–R1137.
- Chávez-López, S. y J.J. Schmitter-Soto. 1995. Marco Geológico y Ambiental del Área de Estudio. Capítulo 1: 1-9. *En: La Langostilla: Biología, Ecología y Aprovechamiento*. Eds. Aurióles-Gamboa, D. y Balart, E.F. Pub. Esp. CIBNOR, 233 p.
- Cherel, Y., Hobson, K. A., Bailleul, F. y R. Groscolas. 2005. Nutrition, physiology, and stable isotopes: New information from fasting and molting penguins. *Ecology*, 86(11), 2005, pp. 2881–2888.
- Cherel, Y. y K. A. Hobson. 2007. Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: a tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 329:281–287.
- Cherel, Y., Hobson, K. A., Guinet, C. y C. Vanpé. 2007. Stable isotopes document seasonal changes in trophic niches and winter foraging individual specialization in diving predators from the Southern Ocean. *Journal of Animal Ecology*. 76:826–836.
- Cherel, Y., Le Corre, M., Jaquemet, S. Ménard, F., Richard, P. y H. Weimerskirch. 2008. Resource partitioning within a tropical seabird community: new information from stable isotopes. *Marine Ecology Progress Series*. 366: 281–291.

- Christensen, J. T. y K. Richardson. 2008. Stable isotope evidence of long-term changes in the North sea food web structure. *Marine Ecology Progress Series*. 368:1-8.
- Clinton, W. L. 1994. Sexual Selection and Growth in Male Northern Elephant Seals. *En: Elephant seals: population ecology, behavior, and physiology*. B. J. Le Boeuf and R. M. Laws (Eds.). University of California Press. Los Angeles. 237 – 252 p.
- Condit, R. y B. J. Le Boeuf. 1984. Feeding Habits and Feeding Grounds of the Northern Elephant Seal. *Journal of Mammalogy*. Vol. 65, No. 2: 281-290.
- Cullen, J., Rosenthal, Y. y P. Falkowski. 2001. The effect of anthropogenic CO<sub>2</sub> on the carbon isotope composition of marine Phytoplankton. *En: Limnology and Oceanography*. Vol. 46(4), p. 996–998.
- DeLong, R. L., y B. S. Stewart. 1991. Diving patterns of northern elephant seal bulls. *Marine Mammal Science*. 7:369–384.
- Descolas-Gros, C. y M. Fontugne. 1990. Stable carbon isotope fractionation by marine phytoplankton during photosynthesis. *En: Plant, Cell & Environment*. Vol. 13, p. 207-218.
- DeNiro, M. J. y S. Epstein. 1978. Influence of the diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica Cosmochimica Acta*. 42: 495-506.
- Deutsch, C. J., Crocker, D. E., Costa, D. P. y B. J. Le Boeuf. 1994. Sex and age-related variation in reproductive effort of the Northern Elephant Seal. *En: Elephant Seals: Population Biology, Ecology, Behavior, and Physiology*. B.J. Le Boeuf and R.M. Laws, Eds. University of California Press: Los Angeles; pp. 169-210.
- Drago, M., Crespo, E., Aguilar, A., Cardona, L., García, N., Dans, S. y N. Goodall. 2009. Historic diet change of the South American sea lion in Patagonia as revealed by isotopic analysis. *Marine Ecology Progress Series*. 384: 273–286.

- Elorriaga-Verplancken, F. 2009. Variación de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en colágeno dental de lobos marinos del género *Zalophus*: Patrones ontogénicos y geográficos. Tesis doctoral. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR), Baja California Sur, México. 163 pp.
- Estes, J. A., Riedman, M. L., Staedler, M. M., Tinker, M. T. y B. E. Lyon. 2003. Individual variation in prey selection by sea otters: Patterns, causes and implications. *Journal of Animal Ecology*. 72: 144-155.
- Etnoyer, P., Canny, D., Mate, B. y L. Morgan. 2004. Persistent pelagic habitats in the Baja California to Bering sea (B2B) Ecoregion. *Oceanography*. 17(1):90-101.
- Field, I.C., Bradshaw, C.J., Burton, H.R., Sumner, M.D. y M. A. Hindell. 2005. Resource partitioning through oceanic segregation of foraging juvenile southern elephant Seals (*Mirounga leonina*). *Oecologia* 142, 127–135.
- Fogel, M. L., Tuross, N. y D. W. Owsley. 1989. Nitrogen isotope tracers of human lactation in modern and archaeological populations. Annual Report of the Director, Geophysical Laboratory, Carnegie Institution of Washington 1988–1989, 111–117.
- Forrester, T., Badaloo, A. V., Chandrasekar, P. y A. A. Jackson. 1994. Urea production and salvage during pregnancy in normal Jamaican women. *American Journal of Clinical Nutrition*. 60:341–6.
- France, R. L. 1995. Carbon-<sup>13</sup> enrichment in benthic compared to planktonic algae: Foodweb implications. *Marine Ecology Progress Series*. 124: 307-312.
- Fry, B. y P. Parker. 1979. Animal diet in Texas seagrass meadows:  $\delta^{13}\text{C}$  evidence for the importance of benthic plants. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 8: 499–509.
- Fry, B., Anderson, R. K., Entzeroth, L., Bird, J. L. y P. L. Parker. 1984.  $\delta^{13}\text{C}$  enrichment and oceanic food web structure in the northwest Gulf of Mexico. *Contributions in Marine Science*. 27: 49-63.

- Fry, B. y S. C. Wainright. 1991. Diatom sources of  $^{13}\text{C}$ -rich carbon in marine food webs. *Marine Ecology Progress Series*. 76:149-157.
- Funes, R., Gómez, J. y R. Palomares (Eds.) 2007. Área de estudio: Complejo lagunar Bahía Magdalena-Almejas. xxi – xxviii. *En: Estudios Ecológicos en Bahía Magdalena*. Primera Edición. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 311p.
- Gaebler, O. H., Vitti, T. G. y R. Vukmirovich. 1966. Isotope effects in metabolism of  $^{14}\text{N}$  and  $^{15}\text{N}$  from unlabelled dietary proteins. *Canadian Journal of Biochemistry*. 44:1249-1257.
- Gallo-Reynoso, J. P. 2005. El Elefante Marino del Norte. *Biodiversitas*. Boletín Bimestral de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. No. 59: 1-6.
- Gannes, L. Z., O'Brien, D. M. y D. Martínez del Rio. 1997. Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology*. 78:1271–1276.
- García-Aguilar, M. C. 2004. Demografía y Ecología de la Conducta del elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) en las Islas San Benito, México. Tesis doctoral, Centro de Investigación Científica y de Estudios Superiores de Ensenada (CICESE), Baja California, México. 159 pp.
- Goodman, M. N., Lowell, B., Belur, E. y N. B. Ruderman. 1984. Sites of protein conservation and loss during starvation: influence of adiposity. *American Journal of Physiology*. 246:E383–E390.
- Goericke, R. y B. Fry. 1994. Variations of marine  $\delta^{13}\text{C}$  with latitude, temperature, and dissolved  $\text{CO}_2$  in the world. *Ocean. Global Biogeochemical Cycles*. 8: 85-90.
- Greenwood, P. J. 1980. Mating systems, philopatry, and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour*. 28, 1140–1162.

- Hare, P. E., Fogel, M. L., Stafford, T. W. Jr., Mitchell, A. D. y T. C. Hoering. 1991. The isotopic composition of carbon and nitrogen in individual amino acids isolated from modern and fossil proteins. *Journal of Archaeological Science*. 18, 277–292.
- Hedges, R, Stevens, R. y P. Koch. 2005. Isotopes in bones and teeth. *En: M J. Leng (ed.), 2005. Isotopes in Palaeoenvironmental Research*. Springer. Printed in The Netherlands. 137 – 145 p.
- Hinga, K. R., Arthur, M. A., Pilson, M. E. Q. y D. Whitaker. 1994. Carbon isotope fractionation by marine phytoplankton in culture: the effects of CO<sub>2</sub> concentration, pH, temperature and species. *Global Biogeochemical Cycles*. 8:91-102.
- Hirons, A. C., Schell, D. M. y Finney, B. P. 2001. Temporal records of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  in North Pacific pinnipeds: inferences regarding environmental change and diet. *Oecologia*. 129: 591–601.
- Hobson, K. A. y G. R. Clark. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of  $^{13}\text{C}$  in tissues. *The Condor*. 92: 897-903.
- Hobson, K. A. y H. E. Welch. 1992. Determination of trophic relationships within a high arctic marine food web using  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  analysis. *Marine Ecology Progress Series*. 84: 9 – 18.
- Hobson, K. A., Alisauskas, R., y R. Clark. 1993. Stable-Nitrogen Isotope Enrichment in Avian Tissues Due to Fasting and Nutritional Stress: Implications for Isotopic Analyses of Diet. *The Condor*. Vol. 95, No. 2, p. 388-394.
- Hobson K. A., Schell, M. D., Renouf, D. y E. Noseworthy. 1996. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: Implications for dietary reconstructions involving marine mammals. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 53: 528 – 533.

- Hobson K. A., Sease, J. L., Merrick R. L. y J. F. Piatt. 1997. Investigating trophic relationships of pinnipeds in Alaska and Washington using stable isotope ratios of nitrogen and carbon. *Marine Mammal Science*. 13: 114-132.
- Hobson K. A. y D. M. Schell. 1998. Stable carbon and nitrogen isotope patterns in baleen from eastern Arctic bowhead whales (*Balaena mysticetus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 55:2601–2607.
- Hobson K. A. y J. L. Sease. 1998. Stable isotope analysis of tooth annuli reveal temporal dietary records: An example using Steller Sea lions. *Marine Mammal Science*. 14 (1): 116-129.
- Hobson K. A., Sinclair, E. H., York, A. E., Thomason, J. R. y R. E. Merrick. 2004. Retrospective isotopic analyses of Steller sea lion tooth annuli and seabird feathers: A cross-taxa approach to investigating regime and dietary shifts in the Gulf of Alaska. *Marine Mammal Science*. 20 (3): 621-638.
- Houpt, T. R. 1963. Urea utilization by rabbits fed a low-protein ration. *American Journal of Physiology*. 205:1144–1150.
- Houpt, T.R. y K. A. Houpt. 1968. Transfer of urea nitrogen across the rumen wall. *American Journal of Physiology*. 214:1296–1303.
- Houpt, T. R. y K. A. Houpt. 1971. Nitrogen conservation by ponies fed a low-protein ration. *American Journal of Veterinary Research*. 32:579–588.
- Huja, S., Fernández, S., Hill, K. y Y. Li. 2006. Remodeling Dynamics in the Alveolar Process in Skeletally Mature Dogs. *The Anatomical Record Part A*. 288A:1243–1249.
- Jackson, A. A. 1998. Salvage of urea-nitrogen in the large bowel: functional significance in metabolic control and adaptation. *Biochemical Society Transactions*. 26:231–6.

- Jaeger, A., Blanchard, P., Richard, P. y Y. Cherel. 2009. Using carbon and nitrogen isotopic values of body feathers to infer inter- and intra-individual variations of seabird feeding ecology during moult. *Marine Biology*. 56:1233–1240.
- Jenkins, S. G., S. T. Partidge, T. R. Stephenson, S. D. Farley y C. T. Robbins. 2001. Nitrogen and carbon isotope fractionation between mothers, neonates, and nursing offspring. *Oecologia* 129:336–341.
- Junak, S. A. y R. Philbrick. 1999. Flowering plants of the San Benito Islands, Baja California, Mexico. Proceedings of the fifth California Islands Symposium. Santa Barbara Museum of Natural History. Santa Barbara, CA.
- Kelly, J. F. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*. 78:1–27.
- King, J. E. 1983. Seals of the world. Second edition. Cornell University Press. Nueva York, Estados Unidos.
- Knoff, A., Hohn, A. y S. Macko. 2007. Ontogenetic diet changes in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) reflected through stable isotopes. *Marine Mammal Science*. 24(1): 128–137.
- Kingsmill, V. J., Gray, C. M., Moles, D. R. y A. Boyde. 2007. Cortical Vascular Canals in Human Mandible and other Bones. *Journal of Dental Research*. 86(4):368-372.
- Kurle, C. 2002. Stable-isotope ratios of blood components from captive northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) and their diet: applications for studying the foraging ecology of wild otariids. *Canadian Journal of Zoology*. Vol. 80, p. 902–909.
- Kurle, C. M. y G. A. J. Worthy. 2002. Stable nitrogen and carbon isotopes ratios in multiple tissues of the northern fur seal *Callorhinus ursinus*: Implications for dietary and migratory reconstructions. *Marine Ecology Progress Series*. 236: 289–300.

- Klevezal, G. A. 1996. Recording structures of mammals: Determination of age and reconstruction of life history. A. A. Balkema/ Rotterdam/ Brookfield. Holanda.
- Laws, R. M. 1953. The elephant seal (*Mirounga leonine* Linn.). I. Growth and age. Falkland Islands, Dependency. Survey. Scientific. Reports, 8, 1-62.
- Laws, E. A., Popp, B. N., Bidigare, R. R., Kennicutt, M. C. y D. S. Macko. 1995. Dependence of phytoplankton carbon isotopic composition on growth rate and (CO<sub>2</sub>) aq: Theoretical considerations and experimental results. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 59: 1131-1138.
- Le Boeuf, B. J. 1972. Sexual Behavior in the northern elephant seal: *Mirounga angustirostris*. *Behaviour*. 41 (1): 1-26 p.
- Le Boeuf, B. J., R. C. Condit y J. Reiter. 1989. Parental investment and the secondary sex ratio in northern elephant seals. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 25: 109-117.
- Le Boeuf, B. J., Crocker, D. E., Blackwell, S. B., Morris, P. A. y P. H. Thorson. 1993. Sex differences in foraging in northern elephant seals. Pags. 149–178. *En: I. L. Boyd (Ed.) Marine mammals: advances in behavioral and population biology*. Oxford University Press, Londres, Reino Unido.
- Le Boeuf, B. J. 1994. Variation in the Diving Pattern of Northern Elephant Seals with Age, Mass, Sex, and Reproductive Condition. *En: B. J. Le Boeuf y R. M. Laws (Eds.). Elephant Seals: Population Ecology, Behavior, and Physiology*. University of California Press, Los Angeles. 237 – 252 p.
- Le Boeuf, B. J. y R. M. Laws. 1994. Elephant Seals: An introduction to the genus. *En: B. J. Le Boeuf y R. M. Laws (Eds.). Elephant Seals: Population Ecology, Behavior, and Physiology*. University of California Press, Los Angeles. 1-28 p.
- Le Boeuf, B. J., Morris, P. A., Blackwell, S. B., Crocker, D. E. y D. P. Costa. 1996. Diving behavior of juvenile northern elephant seals. *Canadian Journal of Zoology*. 74:1632–1644.

- Le Boeuf, B. J., Crocker, D. E., Costa, D. P., Blackwell, S.B., Webb, P.M. y D. S. Houser. 2000. Foraging ecology of Northern elephant seals. *Ecological Monograph*. 70 (3): 353-382.
- Le Boeuf, B. J. y D. E. Crocker. 2005. Ocean climate and seal condition. *BMC Biology*, 3:9.
- Lesage, V., Hammill, M. O. y K. M. Kovacs. 2001. Marine mammals and the community structure of the Estuary and Gulf of St Lawrence, Canada: evidence from stable isotope analysis. *Marine Ecology Progress Series*. 210:203–221.
- Lesage, V., Hammill, O. y M. Kovacs. 2002. Diet-tissue fractionation of stable carbon and nitrogen isotopes in phocid seals. *Marine Mammal Science*. 18:182–193.
- Lewis, R., Connell, T. C. O., Lewis, M., Campagna, C. y A. R. Hoelzel. 2006. Sex-specific foraging strategies and resource partitioning in the southern elephant seal (*Mirounga leonina*). *Proceedings of the Royal Society B*. 273: 2901-2907.
- Lluch, B. D. 1969. El Lobo Marino de California *Zalophus californianus*, (Lesson, 1828) Allen, 1880: Observaciones sobre su Ecología y Explotación. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables.
- Lynn, R. J. y J. J. Simpson. 1987. The California Current System: the seasonal variability of its physical characteristics. *Journal of Geophysical Research*. 92:12947-12966.
- McLaren, I. A. 1958. The Biology of the ringed seal (*Phoca hispida*) in the Eastern Canadian Arctic. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*. 118.
- Mearns, A. J., Olson, R. J., Young, D. R. y H. A. Schafer. 1981. Trophic structure and the cesium-potassium ratio in pelagic ecosystems. *CalCOFI Rep*. XXII: 99-110.

- Mendes, S., Newton, J., Reid, R.J., Zuur, A.F. y Pierce, G.J. 2007. Stable carbon and nitrogen isotope ratio profiling of sperm whale teeth reveals ontogenetic movements and trophic ecology. 2007. *Oecologia*, 151:605–615.
- Meyer, W. y T. Matzke. 2004. On the development of the deciduous teeth in the common seal (*Phoca vitulina*). *Mammalian Biology*, 69 (6): 401-409.
- Michener, R.H. y D.M. Schell. 1994. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. *En: Stable isotopes in ecology and environmental science*. Eds. Lajtha, K., Michener, R. H. Blackwell, Boston, pp 138-15.
- Minagawa, M. y E. Wada. 1984. Stepwise  $\delta^{15}\text{N}$  enrichment along food chains. Further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochimica Cosmochimica Acta*. 48: 1135-1140.
- Morejohn, G. y D. Baltz. 1970. Contents of the stomach of an elephant seal. *Journal of Mammalogy*, 51: 173-174.
- Moser, H. G., Smith, P. E., y L. E. Eber. 1987. Larval fish assemblages in the California Current region, 1954-1960, a period of dynamic environmental change. *CalCOFI Rep.*, 28, pp 97-124.
- Newsome, S. D., Koch, P., Etnier, M. A., y D. Aurióles-Gamboa. 2006. Using carbon and nitrogen isotope values to investigate maternal strategies in Northeast Pacific Otariids. *Marine Mammal Science*. 22 (2): 1-18.
- Newsome, S. D., Etnier, M. A., Gifford-Gonzalez, D., Phillips, D. L., Van Tuinen, M., Hadly, E. A., Costa, D. P., Kennett, D. J., Guilderson, T. P. y P. L. Koch. 2007. The shifting baseline of northern fur seal ecology in the northeast Pacific Ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 104, No. 23: 9709 - 9714.
- Newsome, S. D., Martínez-Del Río, C., Bearhop, S. y D. Phillips. 2007. A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 5 (2): 429-436.

- Niño-Torres, C. A., Gallo-Reynoso, J. P., Galván-Magaña, F., Escobar-Briones, E. y S. A. Macko. 2006. Isotopic analysis of  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{34}\text{S}$  "A feeding tale" in teeth of the longbeaked common dolphin, *delphinus capensis*. *Marine Mammal Science*. 22(4): 831–846.
- Noren, D. P, Crocker, D. E., Williams, T. M. y D. P. Costa. 2003. Energy reserve utilization in northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) pups during the postweaning fast: size does matter. *Journal of Comparative Physiology B*. 173:443-454.
- O'Connell, T. C., Hedges, R. M., Healey, M. A. y A. H. Simpson. 2001. Isotopic Comparison of Hair, Nail and Bone: Modern Analyses. *Journal of Archaeological Science*. 28, 1247–1255.
- Ortner, D y G. Turner, 2003. The biology of skeletal tissues. *En: Ortner D. J., Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains*, 2nd ed. New York: Academic Press. pp 21-29.
- Orr, R. y T. Poulter. 1965. The pinnipeds population of Año Nuevo Island, California. *En: Proceeding of the California Academy of Sciences*. Vol. 32, p.377-404.
- Owens, P.J.N. 1987. Natural variations in  $\delta^{15}\text{N}$  in the marine environment. *Advances in Marine Biology*. 24: 389-451.
- Páez-Rosas, D. y D. Aurióles-Gamboa. Aceptado. Alimentary niche partitioning in the Galapagos sea lion, *Zalophus Wollebaeki*. *Marine Biology*.
- Pablo-Rodríguez, N. 2009. Amplitud, Nivel y Superposición Trófica de los pinnípedos de Isla San Benito, B. C., México. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR), Baja California Sur, México. 84 pp.
- Pancost, R. D., Freeman, K. H., Wakeham, S. G. y C. Y. Robertson. 1997. Controls on carbon isotope fractionation by diatoms in the Peru upwelling region. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 61:4983-4991.

- Pauly, D., Trites, A. W., Capuli, E. y V. Christensen. 1998. Diet composition and trophic levels of marine mammals. *ICES Journal of Marine Science*. 55: 467-481.
- Porras-Peters, H., Aurióles-Gamboa, D. y P. L. Koch. 2008. Position, breadth and trophic overlap of sea lions (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, Mexico. *Marine Mammal Science*. 24(3): 554–576.
- Post, D. M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology*. 83(3): 703-718.
- Radford, K. W., Orr, R. T. y C. L. Hubbs. 1965. Reestablishment of the northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) off Central California. *Proceedings of the California Academy of Sciences*. 31: 601–612.
- Reijnders, P.J. 1992. *Phoca vitulina*. En: *Handbuch der Säugetiere Europas*. Teil 2: Robben, Bd. 6: Meeressäuger. Niethammer, J. y F. Krapps Eds. Wiesbaden: Aula-Verlag. Pp. 120-137.
- Reiter J., Stinson, L. N. y B. J. Le Boeuf. 1978. Northern elephant seal development: the transition from weaning to nutritional independence. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 3: 337-367.
- Roth, J. D. y K. A. Hobson. 2000. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissue of captive red fox: Implications for dietary reconstruction. *Canadian Journal of Zoology*. 78: 848–852.
- Rau, G. H., Ainley, D. J., Bengston, J. L. Torres, J. J. y T. L. Hopkins. 1992.  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in Weddell sea birds, seals and fish: Implications for diet and trophic structure. *Marine Ecology Progress Series*. 84: 1–8.
- Rau, G., Ohman, M. y A. Pierrot-Bultsc. 2003. Linking nitrogen dynamics to climate variability off central California: a 51 year record based on  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in CalCOFI zooplankton. *Deep-Sea Research II*. 50: 2431–2447.

- Richards, M.P., Mays, S. y B.T. Fuller. 2002. Stable Carbon and Nitrogen Isotope Values of Bone and Teeth Reflect Weaning Age at the Medieval Wharram Percy Site, Yorkshire, UK. *American Journal of Physical Anthropology* 119: 205–210.
- Ryazanov, D. A. y G. A. Klevezal. 1991. Development of upper canine teeth of *Enhydra lutris* and some remarks determination of the individual's age. *Zoologichesky Zhurnal*. 70(1): 121-128.
- Saudek, C.D. y P. Felig. 1976. The metabolic events of starvation. *American Journal of Medicine*. 60: 117-26.
- Scheffer, V. B. 1950. Growth layers on the teeth of Pinnipedia as an indication of age. *Science*. 112 (2907): 309-311.
- Schell, D. M., Barnett, B.A. y K. A. Vinette. 1998. Carbon and nitrogen isotope ratios in zooplankton of the Bering, Chukchi and Beaufort Seas. *Marine Ecology Progress Series*. 162: 11-23.
- Schoeninger, M. J. y M. J. DeNiro. 1984. Nitrogen and carbon isotopic composition of bone collagen from marine and terrestrial animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 48: 625–639.
- Simmons, S. E., Crocker, D. E., Kudela, R. M. y D. P. Costa. 2007. Linking Foraging Behaviour of the Northern Elephant seal with Oceanography and Bathymetry at Mesoscales. *Marine Ecology Progress Series*. 346: 265-275.
- Simon, O. 1989. Metabolism of proteins and amino acids. *En*: Bock, H. D., Eggum, B. O., Low, A. G., Simon, O., Zebrowska, T. (Eds). Protein metabolism in farm animals. Evaluation, digestion, adsorption, and metabolism. Oxford University Press, Oxford, pp 273–363.
- Steele, K. W. y R. M. Daniel. 1978. Fractionation of nitrogen isotopes by animals: a further complication to the use of variations in the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  for tracer studies. *Journal of Agriculture Science. (Cambridge)* 90:7-9.

- Stewart, B. S. y H. R. Huber. 1993. *Mirounga angustirostris*. Mammalian Species. No. 449, 1-10.
- Stewart, B. S. y R. L. De Long. 1994. Post-breeding foraging migrations of northern elephant seals. *En: B. J. Le Boeuf y R. M. Laws (Eds.). Elephant Seals: Population Ecology, Behavior, and Physiology*. University of California Press, Los Angeles. 237 – 252 p.
- Stewart, B. S., y R. L. De Long. 1995. Double migrations of the northern elephant seal, *Mirounga angustirostris*. *Journal of Mammalogy* 76: 196–205.
- Stewart, B. E., Innes, S. y R. E. Stewart. 1998. Mandibular Dental Ontogeny of Ringed Seals (*Phoca hispida*). *Marine Mammal Science*. 14(2): 221-231.
- Sutoh, M., Koyama T. y T. Yoneyama. 1987. Variations of natural <sup>15</sup>N abundances in the tissues and digesta of domestic animals. *Radioisotopes* 36: 74–77.
- Thorson, P. y B. Le Boeuf. 1994. Development Aspects of Diving in Northern Elephant Seal Pups. *En: B. J. Le Boeuf y R. M. Laws (Eds.). Elephant Seals: Population Ecology, Behavior, and Physiology*. University of California Press, Los Angeles. 237–252 p.
- Tieszen, L. L., Boutton, T. W., Tesdahl, K. G. y N. A. Slade. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for  $\delta^{13}\text{C}$  analysis of diet. *Oecologia*. 57: 32-37.
- Tieszen L. L. y T. Fagre. 1993. Effect of diet quality and composition on the isotopic composition of respiratory CO<sub>2</sub>, bone collagen, bioapatite, and soft tissues. *En: Lambert J. B. y G. Grupe (Eds). Prehistoric Human Bone: Archaeology at the Molecular Level*. Springer, Berlin Heidelberg New York, 121-155 pp.
- Tricker, N. D., Dixon, R. B. y L. P. Garetto. 2002. Cortical bone turnover and mineral apposition in dentate bone mandible. *En: Garetto, L. P., Turner, C. H., Duncan, R. L. y D. B. Burr (Eds). Bridging the gap between dental and orthopaedic implants*. Indiana University School of Dentistry. 226–227 pp.

- Trillmich, F. y K. A. Ono. 1991. Pinnipeds and El Niño: Responses to environmental stress. Trillmich F. y K. Ono. Ed. Springer-Verlag. 293 pp.
- Trites, A.W. 2001. Marine mammal trophic levels and interactions. Pages 1628-1633. *En: Steele, J., Thorpe, S. y K. Turekian (Eds.) Encyclopedia of Ocean Sciences.* Academic Press, London.
- Vander Zanden, M. J., Cabana, G. y J. B. Rasmussen. 1997. Comparing the trophic position of littoral fish estimated using stable nitrogen isotopes ( $\delta^{15}\text{N}$ ) and dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 54: 1142–1158.
- Vander-Zanden, M. J. y J. B. Rasmussen. 2001. Variation in  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta\text{C}^{13}$  trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography.* 46 (8): 2061-2066.
- Vanderklift, M. A. y S. Ponsard. 2003. Sources of variation in consumer-diet  $\delta^{15}\text{N}$  enrichments: a meta-analysis. *Oecologia* 136: 169–182.
- Wada, E. y A. Hattori. 1991. Nitrogen in the sea: forms, abundances and rate processes. Boca Raton. CSC Press.
- Walker, J. y S. Macko. 1999. Dietary studies of marine mammals using stable carbon and nitrogen isotopic ratios of teeth. *Marine Mammal Science* 15: 314–334.
- Waterlow, J. C., Garlick, P. J. y D. J. Millward. 1978. Protein turnover in mammalian tissues and in the whole body. Elsevier/ North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- Young, V. R. y N. S. Scrimshaw. 1971. The physiology of starvation. *Scientific American.* 225: 14–21.
- Zeno, R. L., Crocker, D. E., Hassrick, D. L., Allen, S.G. y D. P. Costa. 2008. Development of foraging behavior in juvenile northern elephant seals. *Journal of Zoology.* 274: 180–187.