INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

Participación de la ballena azul (*Balaenoptera musculus*) en el reciclamiento de nutrientes del suroeste del Golfo de California

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

CRISTINA CASILLAS LÓPEZ

La Paz, BCS., Abril del 2018

SIP-14 BIS

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de **La Paz, B.C.S.,** siendo las **12:00** horas del día **25** del mes de **Mayo** del **2018** se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de **CICIMAR** para examinar la tesis titulada:

"PARTICIPACIÓN DE LA BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*) EN EL RECICLAMIENTO DE NUTRIENTES DEL SUROESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA"

Presentada por el alumno:

CASILLAS	**LÓPEZ**	**CRISTINA**
Apellido paterno	materno	nombre(s)

Con registro: **B 1 6 0 6 4 5**

Aspirante de:

MAESTRIA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis

DRA. DIANE GENDRON LANIEL
Directora de Tesis

DRA. AÍDA MARTÍNEZ LÓPEZ
2ª. Directora de Tesis

DR. VÍCTOR MANUEL GÓMEZ MUÑOZ

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ

DR. GERARDO VERDUGO DÍAZ

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO

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

I.P.N.
CICIMAR
DIRECCIÓN

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 04 del mes de Junio del año 2018

El (la) que suscribe BIÓL. CRISTINA CASILLAS LÓPEZ Alumno (a) del Programa

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro B160645 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DRA. DIANE GENDRON LANIEL Y DRA. AÍDA MARTÍNEZ LÓPEZ

y cede los derechos del trabajo titulado:

"PARTICIPACIÓN DE LA BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*) EN EL RECICLAMIENTO DE NUTRIENTES DEL SUROESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA"

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

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: cris.casillaslopez@gmail.com - dgendron@ipn.mx – diatomeas@yahoo.com.mx

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

BIÓL CRISTINA CASILLAS LÓPEZ

Nombre y firma del alumno

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS iii
DEDICATORIA iv
LISTA DE FIGURAS v
LISTA DE TABLAS vii
ANEXOS viii
GLOSARIO ix
RESUMEN xii
ABSTRACT xiii
1 INTRODUCCIÓN 1
2 ANTECEDENTES 4
4 OBJETIVOS 8
4.1 General 8
4.2 Específicos 8
5 JUSTIFICACIÓN 9
6 METODOLOGÍA 10
6.1 Área de Estudio 10
6.2 Recolecta de heces en campo 11
6.3 Recolecta de presas de ballena azul 12
6.4 Composición de elementos traza de las heces 12
6.5 Experimento *in situ* 12
6.5.1 Clorofila-a 15
6.5.2 Nutrientes 14
6.5.3 Isotopos estables de N y C en el material orgánico particulado 15
6.5.4 Producción primaria 15
6.6 Análisis estadístico 16
7 RESULTADOS 17

7.1 Composición de elementos traza de las heces 17
7.1.1 Variación de elementos traza entre categorías de ballenas 18
7.1.2 Variación de elementos traza entre años 19
7.1.3 Variación de elementos traza entre presas dominantes 20
7.1.4 Comparación entre áreas de estudio 21
7.2 Experimento in situ 22
7.2.1 Clorofila-a 26
7.2.2 Nutrientes 23
7.2.3 Isotopos estables de N y C en el material orgánico particulado 30
7.2.4 Producción primaria 27
9 DISCUSIÓN 32
9.1 Composición de elementos traza de las heces 32
9.1.1 Variación de elementos traza entre categorías de ballenas 33
9.1.2 Variación de elementos traza entre años 35
9.1.3 Variación de elementos traza entre presas dominantes 36
9.1.4 Comparación entre áreas de estudio 37
9.2 Experimento in situ 38
10 CONCLUSIONES 44
11 RECOMENDACIONES 45
12 BIBLIOGRAFÍA 47
13 ANEXOS 57

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN) por aceptarme en el programa de maestría de la institución, así como permitirme el uso de sus instalaciones y equipo para llevar a cabo mi proyecto de tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI), Beca Institucional de Posgrado del Instituto Politécnico Nacional, Proyecto SIP 20170147: Monitoreo de Ballenas como Indicadores de Cambio. Society for Marine Mammals (SMM), Cetacean International Society (CSI), Sociedad Mexicana de Mamíferos Marinos (SOMEMMA) y American Cetacean Society de San Francisco por los apoyos económicos brindados para la realización de la tesis.

A la Dra. Diane Gendron por permitirme ser parte de su laboratorio y alimentar mi curiosidad e interés a estos gigantes marinos. A la Dra. Aída Martínez-López por enseñarme otra parte de la biología que aunque es literalmente pequeña en tamaño es inmensa en importancia ecológica. Les agradezco a ambas por la paciencia que me tuvieron y todo lo que me han enseñado que ha ayudado a mi formación como profesional. Muchas gracias por todo, son personas que admiro.

A mi comité revisor: Dr. Víctor M. Gómez-Muñoz, Dr. Jaime Gómez-Gutiérrez y Dr. Gerardo Verdugo, por sus atinados comentarios constructivos y artículos proporcionados para mejorar el trabajo.

A las expertas que me ayudaron a realizar los análisis en el experimento: Dra. Diana Escobedo-Urías y Rocío, sin su apoyo en laboratorio y campo no se hubiera logrado este trabajo. Al Laboratorio de Ecología de Cetáceos: Geraldine, Erica y Mirsha que acudían a mis dudas, me enseñaron mucho y me apoyaron siempre.

Al personal de CICIMAR que ayudó en los trámites desde mi ingreso hasta esta etapa de titulación.

Muchas gracias.

DEDICATORIA

A mis papás que siempre me apoyaron y me impulsaron a seguir mi sueño y ser mejor.

A mi compañero de la vida, Andrés. Que llegaste en el momento indicado y me dejaste ser libre para completar mis metas. Te agradezco tu esfuerzo en nuestra relación de lejos y todos tus comentarios que me has proporcionado para ser mejor ser humano. Te amo.

A mis hermanos, Fer y Pau, que aunque a veces no compartamos las mismas opiniones al final siempre queremos lo mejor para los otros.

A mis amigos Juan, Jorge, Fer, Roberto, Andy, Eduardo, Helen, Andrea y Jona que están siempre al pendiente de mí. Tantos años juntos, cada uno me ha enseñado cosas diferentes de la vida y me han hecho crecer. Los aprecio mucho.

A los organismos más grandes, las ballenas azules, y a los más pequeños, fitoplancton. Que me enseñaron que todo es parte de un sistema y uno afecta al otro.

Al mar, mi primer amor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del área de estudio. 10

Figura 2. Disposición de los contenedores utilizados en el experimento. Se mantuvieron entre 1.5 a 2 m bajo la superficie. 14

Figura 3. Concentraciones promedio y desviaciones estándar de los elementos traza contenidas en las muestras de heces de ballenas azules (n=41). 17

Figura 4. Concentración promedio y desviaciones estándar de los elementos por categorías de ballenas: hembras lactantes (n=7), hembras (n=25) y machos (n=6). 18

Figura 5. Concentración promedio de cada elementos en heces con sus desviaciones estándar entre años de muestreo (n=41). 20

Figura 6. Concentraciones promedio y desviación estándar de los elementos traza en krill (n= 14) y mictófidos (n=5). 21

Figura 7. Valores diarios de del pH (A) y porcentaje de saturación de oxígeno (B) en el control y los tratamientos durante 10 días de monitoreo dentro de los contenedores. 23

Figura 8. Porcentajes de nutrientes iniciales (A). Porcentaje inicial de NOT (B). Porcentaje inicial de NID (C). 24

Figura 9. Porcentaje promedio de nutrientes en los tratamientos. 25

Figura 10. Porcentaje promedio de los nutrientes nitrogenados en los tratamientos para el nitrógeno orgánico total filtrado (NOT) (A) y el nitrógeno inorgánico disuelto (NID) (B). 25

Figura 11. Concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) en el control y los tratamientos I y II enriquecidos con heces fecales de ballena azul. 26

Figura 12. Variabilidad diaria de la concentración de clorofila-a durante diez días del experimento (control, tratamiento I y II). 27

Figura 13. Concentraciones de los nutrientes, línea punteada (●) en relación a la producción primaria, línea sólida (▲). Las columnas representan el control y los tratamientos I y II mientras que las filas representan los nutrientes en relación a la producción (biomasa)..... 28

Figura 14. Concentración (µM) de SiO_4 durante los días del experimento en el control, tratamiento I y tratamiento II. 29

Figura 15. Regresión lineal entre NH4+ y PO43- del control (R2=0.32), tratamiento I (R2=-0.05) y tratamiento II (R2=0.1). 30

Figura 17. Valores de las razones isotópicas del nitrógeno (δ15N) de las heces (círculo negro), del MOP del sitio (círculo blanco) y de los tratamientos (control: cuadrado negro, tratamiento I: triángulo blanco y tratamiento II: triángulo negro) durante los 10 días del experimento. 31

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones promedio (mg kg^{-1}) y desviaciones estándar de los elementos en heces por categorías de ballenas. 19

Tabla 2. Concentraciones promedio (mg kg^{-1}) y desviaciones estándar de los elementos traza en heces de ballena azul (*Balaenoptera musculus*) y tejido de sus presas dominantes en el Golfo de California (*Nyctiphanes simplex* y *Bentosema panamense*) y el Océano Antártico (*Euphausia superba*). Se incluyeron dos especies de mictófidos (*Diaphus effulgens* y *D. hudsoni*) para comparar las concentraciones de elementos traza en ellos. Los elementos sin datos significan que las concentraciones no fueron detectables en las muestras. 22

Tabla 3. Valores promedio de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ para las heces de ballena azul y el material orgánico particulado (MOP) del sitio. 30

Tabla 4. Comparación de los valores isotópicos provenientes de diferentes estudios. Los valores isotópicos encontrados para las heces de ballena azul son menores que los de la piel pero mayores que el sitio de muestreo (Parque Nacional Bahía de Loreto y Cuenca Alfonso, Bahía de La Paz). 42

ANEXOS

Anexo 1. Diagrama modificado del modelo "Whale pump" propuesto por Roman & McCarthy (2010). 57

Anexo 2. Mapa mostrando la localidad de la recolección de agua utilizada para el experimento de enriquecimiento por heces de ballena azul (25°47'33.10"N y 111°17'55.70"O). Se procuró que no existiera influencia de ballenas en esta zona durante una semana antes del experimento. 58

Anexo 3. Tabla del total de muestras analizadas para las concentraciones de elementos traza. Algunas de las muestras más antiguas no fueron encontradas en la base de datos y se desconocia a que individuo de ballena azul pertenecían. .. 59

GLOSARIO

Clorofila: Pigmentos verdes que se encuentran en organismos eucariontes que poseen cloroplastos (plantas, algas) y en algunos procariotas: bacterias que no poseen cloroplastos (cianobacterias, bacterias verdes y púrpuras). Es responsable de la absorción de la luz para proporcionar energía para la fotosíntesis.

Clorofila-*a*: Forma de la clorofila más detectada en distintos grupos taxonómicos de organismos vegetales, vinculada al centro activo de los complejos moleculares, llamados fotosistemas, que absorben la luz durante la fotosíntesis.

Delta (δ): Valor relativo de desviación, expresado en partes por mil ($^{0}/_{00}$), de las razones isotópicas de algún compuesto o muestra referenciada a las de un material estándar internacionalmente aceptado que son el nitrógeno atmosférico para nitrógeno y una calcita fósil llamada Belemnite PeeDee de Viena (VPDB) para el carbono.

Diazótrofos: Bacterias que fijan el nitrógeno atmosférico en una forma biodisponible (principalmente NH_4^+).

Elemento traza: Nutrientes esenciales, requeridos en mínimas cantidades para procesos vitales de crecimiento, desarrollo y función óptima de un organismo. Los elementos traza que son nutricionalmente importantes incluyen cobre, hierro, selenio y zinc.

Fotosíntesis: Proceso de conversión de materia inorgánica en materia orgánica por medio de la energía lumínica.

Material orgánico particulado (MOP): Material orgánico, como secreciones, exudados celulares, material fecal de organismos vivos, restos de fitoplancton y zooplancton y material detrítico parcialmente o totalmente degradado, entre otros, cuyo diámetro > 0.2 µm y < 1 cm.

Misticeto: Ballenas barbadas que forman un parvorden del infraorden Cetácea. Son un grupo ampliamente distribuido y diverso de mamíferos marinos carnívoros que se caracterizan por contar con barbas en lugar de dientes.

Nivel trófico: Posición relativa de un organismo dentro de la trama trófica; ésta posición está determinada por la distancia entre un organismo y la utilización directa de la energía solar.

Nutriente: Producto químico procedente del exterior de la célula y que se necesita para realizar sus funciones vitales.

Nutriente limitante: Nutriente escaso que regula la producción primaria de una zona.

Nutrientes nuevos: Formas de carbono y nitrógeno inorgánico del medio que utilizan los productores primarios para llevar a cabo la fotosíntesis. Están pueden ser naturales (deposición atmosférica y surgencias) o potencialmente de origen antropogénico (fertilizantes y pesticidas).

Nutrientes reciclados: Productos orgánicos provenientes de exudados, excreta y restos de organismos y material detrítico que es descompuesto por bacterias y los transforman en nutrientes disponibles para los productores primarios.

Parvorden: Categoría taxonómica de organismos relacionados que se clasifican debajo de un infraorden y sobre una superfamilia.

Producción fitoplanctónica: Síntesis de materia orgánica que realizan los organismos autótrofos a través de los procesos de fotosíntesis o quimiosíntesis utilizando dióxido de carbono. Es el punto de partida de la circulación de energía y nutrientes a través de las cadenas tróficas.

Productividad primaria: Producción de materia orgánica referida a una unidad de tiempo (*i.e.* horas, día, año).

Profundidad de compensación: Profundidad en la que la intensidad de la luz queda reducida a un 1% de la que ha penetrado la superficie, el límite por debajo del cual no queda luz suficiente para la fotosíntesis.

Surgencia: Movimiento ascendente del agua mediante el cual agua subsuperficial es llevada hasta la superficie, desde profundidades generalmente menores de 100-200 metros, y removidas desde el área de transporte por el flujo horizontal. Produciéndose así un aporte de nutrientes a las aguas superficiales empobrecidas por el consumo biológico.

Zona eufótica: Estrato en los océanos en la que penetra la luz del sol. Su profundidad es altamente variable en función de la turbidez del agua.

RESUMEN

El concepto “Whale Pump” es la contribución de nutrientes fecales de los mamíferos marinos a la productividad primaria. Este aporte se ha explorado en regiones altamente productivas del Océano Antártico pero actualmente se desconoce este proceso en regiones subtropicales. Se investigó el aporte de nutrientes en las heces y presas de ballenas azules del Parque Nacional Bahía de Loreto, Golfo de California y en un experimento *in situ*. Las concentraciones de elementos traza (Cd, Cu, Fe, Mn y Zn) contenidos en una serie histórica de heces secas (2002, 2009–2016) no mostraron diferencias significativas entre hembras lactantes, hembras y machos ($p>0.5$), pero sí entre años de muestreo ($p<0.0001$). Las heces del año 2011 tuvieron bajos valores de elementos traza separando la serie en dos tendencias, menores concentraciones antes de 2011 y mayores concentraciones después de 2011. Se realizó un experimento aislando fitoplancton nativo de la zona eufótica en contenedores adicionando dos concentraciones de heces frescas (I: 8.38 µM y II: 13.36 µM de NH_4^+) y un control (sin heces) incubados a 1.5–2m debajo de la superficie. Estos fueron sub-muestreados diariamente para obtener concentración de clorofila-*a*, nutrientes disueltos (NO_2^-, NO_3^-, NH_4^+, urea, PO_4^{3-} y SiO_4), material orgánico particulado ($\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$) y estimaciones de producción fitoplantónica (biomasa). Se observó un incremento en los nutrientes (principalmente NH_4^+ y PO_4^{3-}) a partir del segundo día incrementándose significativamente la concentración de clorofila-*a* entre el control y los dos tratamientos ($p<0.0001$). El material orgánico particulado tuvo un consumo de nutrientes fecales aumentando el $\delta^{15}N$ en $1.5^0/_{00}$. La producción fitoplanctónica promedio (mg C m^{-3}) del control (76.1±38.4), tratamiento I (275.2±237.6) y tratamiento II (439.4±464.4) mostraron diferencias significativas ($p<0.0001$). Esto demuestra que las heces de ballena azul liberan nutrientes los cuales son metabolizados por el fitoplancton incrementando la biomasa del fitoplancton y demuestra el proceso de Whale pump de la ballena azul ocurre en ésta zona de crianza.

ABSTRACT

"Whale Pump" is the contribution of fecal nutrients from marine mammals to primary productivity. This contribution has been explored in highly productive regions of the Southern Ocean, but this process is currently unknown in subtropical regions. We investigated the contribution of trace elements in the feces and prey of blue whales of the Bahia de Loreto National Park, Gulf of California; as well as the nutrient release and phytoplankton uptake in an experiment. The concentrations of trace elements (Cd, Cu, Fe, Mn and Zn) contained in a historical series of dry feces (2002, 2009-2016) did not show significant differences between lactating females, females and males ($p > 0.5$), but between years of sampling ($p < 0.0001$). The feces of the year 2011 had low values of trace elements separating the series into two trends. An experiment was performed isolating native phytoplankton from the euphotic zone in containers adding two concentrations of fresh feces (I: 8.38 µM and II: 13.36 µM of NH_4^+) and a control (without feces) incubated at 1.5-2m below the surface. These were sub-sampled daily to obtain concentration of chlorophyll-a, dissolved nutrients (NO_2^-, NO_3^-, NH_4^+, urea, PO_4^{3-} and SiO_4), particulate organic material ($\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$) and estimates of phytoplankton production (biomass). An increase in nutrients (mainly NH_4^+ and PO_4^{3-}) was observed from the second day, significantly increasing the chlorophyll-a concentration between the control and the two treatments ($p<0.0001$). The particulate organic material had a fecal nutrient intake increasing the $\delta^{15}N$ $1.5^0/_{00}$. The average phytoplankton production (mg C m^{-3}) of the control (76.1 ± 38.4), treatment I (275.2 ± 237.6) and treatment II (439.4 ± 464.4) showed significant differences ($p<0.0001$). This shows that blue whale feces release nutrients, which are metabolized by phytoplankton increasing the phytoplankton biomass and demonstrates the Whale Pump process by the blue whale occurs in this breeding area.

1 INTRODUCCIÓN

Los nutrientes tienen una función clave en el control de la productividad primaria y biomasa fitoplanctónica en la capa superficial de los océanos. Los nutrientes son aportados por distintos procesos abióticos provenientes del depósito atmosférico, aportes litogénicos y procesos de surgencias (Redfield, 1958). Estos nutrientes aportados por fenómenos externos a la zona eufótica se les conoce como nutrientes nuevos (Eppley & Petterson, 1979; Cullen, 1991). La evidencia científica muestra que nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, así como algunos elementos traza esenciales para la vida, como Hierro (Fe), Cobalto (Co), Zinc (Zn), Cobre (Cu), Niquel (Ni) y Cadmio (Cd), son elementos traza limitantes en gran parte de los océanos (Moore *et al.*, 2013).

Los elementos traza son esenciales para el funcionamiento fisiológico de los seres vivos porque son componentes claves de las enzimas que catalizan las reacciones bioquímicas de la producción de materia orgánica por la fotosíntesis y quimiosíntesis (Sunda, 2012). Estudios de campo y laboratorio revelan que el hierro y otros elementos traza son esenciales en la composición de la estructura del plancton, en la regulación de la productividad primaria del fitoplancton y en la fijación de nitrógeno en organismos diazótrofos (Sunda, 2012). Los procesos biológicos (biota en el ecosistema) también pueden influir sobre los patrones de productividad de los ecosistemas por medio de adición de nutrientes reciclados por proceso de descomposición y remineralización de materia orgánica (Wing *et al*., 2014). La producción primaria proveniente de estos nutrientes reciclados se le conoce como producción regenerada (Eppley & Petterson, 1979). Históricamente, el papel biogeoquímico de los organismos heterótrofos marinos se restringía a su participación en el ciclo del carbono; incorporándolo a través de su consumo, exudándolo como materia fecal de rápida tasa de hundimiento o como carbono inorgánico a través de la respiración (Ratnajarah *et al.*, 2014). La mayor parte de los nutrientes ligados a la defecación se consideraba perdida para la biota de la superficie y solo podían estar disponibles en la zona eufótica por procesos físicos de surgencias de aguas profundas (Roman *et al.*, 2014).

No obstante, estudios recientes sugieren que los mamíferos y aves marinas forman una parte significativa del reciclado de nutrientes subsuperficiales hacia aguas superficiales, estimulando la productividad primaria y la exportación de carbono orgánico (Nicol *et al.*, 2010). Por ejemplo, los mamíferos marinos llevan a cabo migraciones verticales, bucean para alimentarse, ascienden para respirar y defecar en la superficie reciclando o regresando nutrientes hacia la zona eufótica que de otra forma quedarían confinados en las profundidades del océano (Roman & McCarthy, 2010).

Los aportes de nutrientes proveniente de heces de cetáceos de gran tamaño se han explorado de manera pionera en el Océano Antártico, donde prevalecen altas concentraciones de macronutrientes pero limitada por elementos traza como el hierro. Existen varios estudios que confirman que las ballenas mejoran la productividad primaria a través del contenido de hierro de sus heces (Nicol *et al.*, 2010; Lavery & Roudnew, 2014; Ratnajarah *et al.*, 2014;). Asimismo, se ha encontrado diferencias en la cantidad de hierro en heces entre ballenas preñadas y lactantes debido a que estas retienen hierro para el crecimiento y el desarrollo del feto, mientras que las demás categorías de ballenas (hembras y machos adultos) defecan la mayor parte del hierro que consumen (Lavery & Roudnew, 2014).

Además del hierro, las ballenas fertilizan la parte superficial del océano poniendo a disposición nitrógeno y fósforo, éstos nutrientes son esenciales para la producción primaria (Roman & McCarthy, 2010). Se ha observado proliferaciones de fitoplancton a pequeña escala que posteriormente servirán de alimento al zooplancton (*i.e.* krill) (Barlow *et al.*, 2008; Lavery & Roudnew, 2014). Esta acción traslada gradualmente los nutrientes a la zona eufótica que de otro modo se concentrarían en aguas profundas o se integrarían en la materia orgánica sedimentaria del fondo oceánico (Roman *et al*., 2014).

Estos trabajos han permitido conceptualizar la importancia de los mamíferos para los procesos biogeoquímicos de los ecosistemas marinos y formular la hipótesis

de que la disminución de las poblaciones de mamíferos marinos, debido a la intensiva caza previo a la Segunda Guerra Mundial (<1945), probablemente disminuyó su participación en el retorno de nutrientes a la zona eufótica (Smetaceck, 2008; Doughty *et al.*, 2015). Debido a que la ballena azul (*Balaenoptera musculus*) es el mamífero más grande del planeta, su disminución poblacional debió influenciar de forma significativa la productividad de las áreas de alimentación (Nicol *et al.*, 2010).

En el Pacifico Noreste, las ballenas azules se distribuyen desde el Golfo de Alaska e islas Aleutianas hasta Baja California (Calambokidis *et al*., 1990; Sears & Calambokidis, 2002) y el Domo de Costa Rica (Bailey *et al.*, 2009). Desde hace dos décadas se ha investigado el estado de esta población y, a partir de estimaciones de abundancia provenientes de estudios de foto-identificación y muestreo de distancias por transectos lineales, se ha inferido que la población está creciendo a una tasa moderada (Baskin, 1993; Barlow, 1994). Alrededor de 300 individuos de esta población migra al Golfo de California durante otoño a primavera. Este es uno de los sitios de migración más estudiado, conocido como área de crianza, reproducción y alimentación (Gendron, 2002).

Debido a la evidencia científica existente, en esta tesis se plantea investigar la contribución de las heces de ballenas azules como fuente de nutrimentos reciclados desde profundidades mayores que la zona eufótica, concretamente en el Parque Nacional Bahía de Loreto. Esta es una zona de congregación de ballenas azules en el suroeste del Golfo de California. También se caracterizará el tipo y la variabilidad de elementos traza (Cd, Cu, Fe, Mn, Zn) contenidos en las heces y su variabilidad entre categoría de ballenas y los contenidos en dos de sus presas principales reportadas en esta región (krill y mictófidos).

2 ANTECEDENTES

Hart (1942) observó que la productividad de las costas es mayor que la del océano abierto e hipotetizó que el aporte de elementos traza, como el hierro y el manganeso provenientes de los sedimentos continentales causaban este patrón de productividad costa-océano. Sin embargo, en algunas regiones como en el Océano Antártico, el cual es un gran reservorio de nutrientes, la productividad primaria está limitada principalmente por el hierro durante el verano austral. En la década de 1980, cuando se llevaron a cabo las primeras estimaciones confiables de las concentraciones de hierro en el agua de mar, se validó esta hipótesis inicial (Martin, 1990). Experimentos de fertilización con hierro han demostrado que la adición de hierro en cantidades traza en las aguas superficiales del Océano Antártico estimula la producción de fitoplancton (Cullen, 1991, 1995; Martin, 1990).

Fue hasta el principio del siglo XXI que se iniciaron el análisis del aporte de los organismos como nutrientes reciclados. Se ha determinado que el krill del antártico, principal presa de las ballenas barbadas, es rico en hierro (12.0–174.3 mg kg^{-1} de peso seco) (Nicol *et al.*, 2010). Además del hierro contenido, el krill libera grandes cantidades de fosfato (3.1 a 14.0 µmol PO_4^{3-} g peso $seco^{-1}$ h^{-1}) en el Océano Antártico (Tovar-Sánchez *et al.,* 2007).

El contenido de hierro fecal de las ballenas barbadas (145,9 ± 133,7 mg kg^{-1}) es aproximadamente diez millones de veces mayor que la concentración promedio del agua de Océano Antártico: Esto sugiere que podría actuar como un fertilizante signifcativo (Nicol *et al.*, 2010). Esto apoya la hipótesis presentada por Smetacek (2008) que plantea que la defecación de las ballenas barbadas tiene un efecto fertilizante debido a la liberación de hierro en la capa superficial del Océano Antártico (Nicol *et al.*, 2010).

Trabajos recientes establecieron que las concentraciones promedio de elementos traza son considerablemente mayores en la materia fecal de ballenas que en comparación con sus tejidos musculares y con el krill (presa pricipal) (Ratnajarah *et al.*, 2014). En el Océano Antártico el contenido de metales traza en el krill es 22

mil veces más alto en Co y 4,8 millones de veces más alto en hierro comparación con las aguas superficiales y en las heces de ballenas fue de 276 mil veces más alto en el Co y 9,2 millones veces más alto en el hierro que en aguas superficiales (Ratnajarah *et al.*, 2014).

Lavery & Roudnew (2014) plantean que la población de ballenas azules actual en el Océano Antártico podría defecar 3 x 10^6 kg de hierro al año mientras las poblaciones pre-explotación de ballena azul pudieron promover la productividad primaria a niveles de 6.5 g C m^{-2} $año^{-1}$. De esta forma esos autores sugieren que al fertilizar su hábitat abonado la capas superficiales con sus heces, las ballenas azules son capaces de mantener las poblaciones de krill necesarias para su supervivencia (Nicol *et al*., 2010).

Ratnajarah *et al.* (2016) estimaron un aporte de hierro y carbono fecal por parte de la población de ballena azul previo a la explotación promoviendo la productividad primaria en solo 0.3 g C m^{-2} $año^{-1}$, cantidad suficiente para la fertilización del Océano Antártico. Para obtener resultados más confiables en el modelo desarrollado, estos autores recomiendan enfocarse en: (i) el contenido de hierro del kril, (ii) la tasa de consumo de kril por las ballenas, (iii) la persistencia del hierro fecal en la zona fótica, (iv) la biodisponibilidad de este hierro retenido, y (v) la proporción carbono/hierro del fitoplancton del Océano Antártico.

Existe un estudio sobre la asimilación de amonio (NH_4^+) y fosfato (PO_4^{3-}) contenidos en las heces de la ballena franca *Eubalaena glacialis* y su contribución a la producción primaria de la Bahía de Fundy, EUA (Roman *et al.,* 2016). La principal conclusión fue que la asimilación de NH_4^+ del fitoplancton en el tratamiento duplico el incremento de la concentración de clorofila-*a* de sus poblaciones al transcurrir 10 h; mientras que en el tratamiento de control las concentraciones de clorofila-a declinaron con el tiempo de incubación. La tasa de liberación de PO_4^{3-} fue suficiente para evitar que la limitación por la disponibilidad de fosfóro (P). El NH_4^+ liberado por las heces frescas es una pequeña fracción del total del nitrógeno fecal debido a que una cantidad adicional es liberado por la orina. Sin embargo, es logísticamente complicado de estimar la cantidad de orina

de una ballena en un estudio de campo. Los resultados de este estudio apoyan la idea que la firma isotópica distintiva del NH_4^+ liberado puede ser utilizado para estimar de manera conservadora la contribución de la bomba biológica de la ballena (Whale pump) para la productividad primaria en regiones costeras donde las ballenas se congregan.

El aporte de nutrientes fecales de misticetos a las zonas que habitan han tenido resultados positivos en el desarrollo del fitoplancton nativo en regiones de altas latitudes (Océano Antártico). Actualmente se desconoce cuál es el aporte de heces de ballenas en regiones tropicales (bajas latitudes) y por consiguiente no se conoce si tiene un efecto similar al observados en altas latitudes. Con este objetivo en mente, se planteó estimar las concentraciones de micronutrientes (elementos traza) y macronutrientes de las heces de ballena azul e investigar el efecto que tienen en el fitoplancton nativo del el suroeste del Golfo de California donde prevalecen condiciones climatológicas, geográficas y atmosféricas distintas a las previamente investigadas en el Océano Antártico.

3 HIPÓTESIS

Las concentraciones de elementos traza en las heces de ballena azul en el Golfo de California son de menor concentración promedio que las concentraciones promedio estimadas en el Océano Antártico.

Las concentraciones de elementos traza en hembras lactantes son en promedio menores debido al desgaste del embarazo y producción de leche) que en las demás categorías de ballenas (hembras y machos adultos).

El cambio en la disponibilidad de las presas entre años se ve reflejado en las concentraciones de los elementos traza de las heces.

Las heces de ballena azul promueven mayor producción primaria en el suroeste del Golfo de California.

4 OBJETIVOS

4.1 General

Investigar la contribución de las heces de ballenas azules como fuente de nutrientes disponibles para la producción primaria en una zona de crianza en el suroeste del Golfo de California.

4.2 Específicos

Determinar la magnitud del aporte de elementos traza a partir de heces de ballenas azules y comparar entre categoría de ballenas (hembras lactantes, no lactantes y machos) y años muestreados, así como con otros estudios y regiones oceánicas.

Establecer con base en experimentos *in situ,* los efectos de los nutrientes liberados por las heces de la ballena azul en los niveles de productividad primaria de la comunidad fitoplanctónica nativa del Golfo de California.

Analizar la respuesta de los productores primarios a la fertilización por medio de las concentraciones de NO_2^-, NO_3^-, NH_4^+, urea, PO_4^{3-} y SiO_4 de heces de ballena azul.

Determinar las concentraciones de clorofila-*a* dentro de los contenedores del experimento.

Determinar las tasas de producción fitoplanctónica (mg C m^{-3}) según las proporciones propuestos por Zeitzschel (1970).

Determinar las proporciones del $\delta^{15}N$ en las heces y el nitrógeno orgánico particulado (PON) de los contenedores del experimento usando espectrometría de masas.

5 JUSTIFICACIÓN

Se ha sugerido que las ballenas barbadas o misticetos, forman una parte crucial de los ciclos biogeoquímicos a través del consumo de zooplancton rico en nutrientes y su posterior defecación (Ratnajarah *et al.*, 2014; Lavery & Roudnew*,* 2014; Roman *et al.*, 2014). Los experimentos realizados con ballena franca en latitudes altas (Bahía Fundy) han reportado liberación de nutrientes de las heces durante las primeras horas de suspensión y el aumento de la concentración de clorofila-*a* (Roman *et al.*, 2014). Las condiciones del sitio de muestreo de ese experimento en una región de latitud alta y el actual trabajo son diferentes.

En este trabajo, se realiza por primera vez un experimento *in situ* de transferencia de nutrientes desde las heces de la ballena azul al fitoplancton. Este es el primer trabajo que analiza el aporte de los mamíferos marinos a la productividad primaria en el Golfo de California.

Como parte de las acciones de conservación de la ballena azul en México y siendo el Golfo de California una zona de refugio de la especie durante el invierno, se pretende estudiar el ciclo de productividad de su hábitat, explorando también los procesos de transferencias de nutrientes por parte de las ballenas como potencial fuente de productividad del fitoplancton y a su vez del krill subtropical *Nyctiphanes simplex* que es su presa principal.

6 METODOLOGÍA

6.1 Área de Estudio

Figura 1. Ubicación del área de estudio.

El Golfo de California está rodeado de tierras semiáridas y montañas relativamente altas situadas a lo largo de su margen occidental que lo diferencian del Océano Pacífico (Álvarez-Borrego & Lara-Lara, 1991). Esto provoca que haya flujo de polvo atmosférico que varía de 12 a 143 mg m^{-2} d^{-1} (Segovia-Zavala *et al.*, 2009), proveyendo de micronutrientes a este sitio.

Durante finales de primavera y principios de otoño, los vientos son débiles y del sureste. Esto permite que agua cálida superficial del Pacífico tropical penetre al Golfo de California. Desde el final de otoño a principios de la primavera los vientos son más fuertes y provienen del noroeste permitiendo que el agua fluya fuera del golfo a lo largo de la costa peninsular (Segovia-Zavala *et al.*, 2009).

Las características hidrográficas determinan una alta biomasa del fitoplancton y productividad primaria debido a que ocurren surgencias en la costa oeste durante el verano y aumenta en la costa este durante el invierno y primavera (Zeitzschel, 1969). Reportes estiman que la productividad primaria disminuye durante el verano y aumenta durante el invierno y primavera (Álvarez-Borrego & Lara-Lara, 1991).

6.2 Recolecta de heces en campo

Desde 2009, se realizaron salidas al mar en el Parque Nacional Bahía de Loreto, usando el método de seguimiento focal de individuo (Altmann, 1974) adaptado a la de ballena azul. Los seguimientos de individuos se hicieron durante el mayor tiempo posible para incrementar la probabilidad de recolectar sus heces. Las heces se recolectaron siguiendo el método descrito en Flores-Cascante y Gendron (2012) anotando la fecha, hora y coordenadas geográficas. Una parte de las muestras se preservaron en alcohol y en formol para estudios genéticos y de cuantificación de cargas de huevos de helmintos. Las submuestras de heces utilizadas en el presente trabajo se deshidrataron al sol a bordo de la embarcación en cajas de Petri siguiendo el método descrito en Valenzuela-Molina *et al.* (2018) protegiéndolas de la contaminación de polvo atmosférico y se preservaron a temperatura ambiente en tubos Eppendorf para posteriores cuantificación de los elementos traza. Durante la temporada de 2017 se recolectó una muestra de hez fresca para su posterior uso en experimentos de incubación de fitoplancton.

La información del sexo de los animales (Enríquez-Paredes, 2005) se obtuvo previamente a partir del análisis molecular de la piel descamada y piel proveniente de biopsias recolectadas con puntas y flechas diseñadas para obtener biopsia (Gendron, 2002, Costa-Urrutia *et al*., 2013). La determinación de hembras lactantes se hizo reconociendo a las hembras que estaban acompañadas por su cría de tamaño considerablemente menor (Gendron, 2002).

6.3 Recolecta de presas de ballena azul

Durante los años 2004 y 2007 se colectaron muestras de krill (*Nyctiphanes simplex*) y mictófidos (*Bentosema panamense*) durante cruceros oceanográficos dentro del Golfo de California. Las muestras fueron congeladas y se liofilizaron para poder ser procesadas para ver la composición de elementos traza.

6.4 Composición de elementos traza de las heces

El análisis de elementos traza de las muestras de heces consistió en pesar entre 0.5 y 1 g por muestra de un total de 41 muestras de heces de ballena azul secas recolectadas en el 2002 y entre 2009 y 2016. La medición de peso de heces se realizó usando una balanza analítica PLUS OHAUS (precisión = 0.0001 g). La materia orgánica fue digerida adicionando una mezcla digestiva de 2 ml de HNO_3 concentrado, 0.6 ml de HCl concentrado y 10 ml de H_2O_2 al 30%. Posteriormente se colocaron en parrillas de calentamiento del tipo Thermolyne Cimarec. Se seleccionaron muestras con materia orgánica necesaria para hacer un duplicado y ser utilizado como patrón de referencia para las demás muestras. Después de ser digeridas se filtró el sobrante con filtros de papel Whatman de 8 µm y se aforaron a 25 ml en matraces volumétricos. Las muestras se trasladaron a tubos de ensayo para su lectura. Las concentraciones de elementos traza se determinaron mediante Plasma Inductivamente Acoplado con Espectrometría de Emisión Óptica (ICP OES) en un equipo 8300 DV de Perkin Elmer. Esto se llevó a cabo en el Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo (CIIEMAD, Ciudad de México).

6.5 Experimento *in situ*

Para cuantificar la variabilidad diaria de los nutrientes liberados por las heces de ballena azul que contribuyen a la producción del fitoplancton se diseñó un experimento realizado durante marzo del 2017 con duración de 10 días. Este es un lapso de tiempo suficiente para observar la respuesta en la productividad primaria y en la generación de biomasa del fitoplancton. Diariamente se obtuvieron

sub-muestras de agua (entre las 8:00 y las 9:00 de la mañana) para monitorear las concentraciones de: clorofila-a, nutrientes y material orgánico particulado.

Mediante muestras de agua recolectadas en áreas donde no hubo influencia previa de las ballenas defecando, se realizó un experimento *in situ* con incubaciones en cinco recipientes de 10 L. El agua para los experimentos fue obtenida con una botella Niskin a 4 profundidades teniendo en cuenta los porcentajes de irradiancia superficial que comprenden la zona eufótica. Posteriormente, estas muestras se combinaron y se dejaron reposar hasta el día siguiente para permitir la estabilización de la temperatura y la concentración de oxígeno disuelto y que la comunidad fitoplanctónica se aclimatara.

Se tuvo un control y dos tratamientos, I y II. Los tratamientos se determinaron haciendo comparable la adición de amonio en los experimentos de Roman *et al.* (2016) con heces de *Eubalaena glacialis* que inician con una concentración de 8 µM. A los contenedores en Tratamiento I se le adicionaron 1.44 g y 2.16 g para los contenedores del Tratamiento II de heces frescas recolectadas el día anterior. Simultáneamente se colectaron y analizaron muestras de agua para determinar la línea base de las concentraciones de nutrientes con las que se determinaron las concentraciones de enriquecimiento de nutrientes (NH_4^+) que fueron 8.38 µM para el tratamiento I y 13.36 µM para el tratamiento II.

Los contenedores se colocaron aproximadamente a 2 m debajo de la superficie para evitar la foto-inhibición de organismos de mayores profundidades (Figura 1). Se registraron las siguientes variables fisicoquímicas: temperatura, pH, concentración de oxígeno disuelto y porcentaje de saturación de oxígeno dentro de los contenedores utilizando una sonda multi-parámetrica YSI ProDSS.

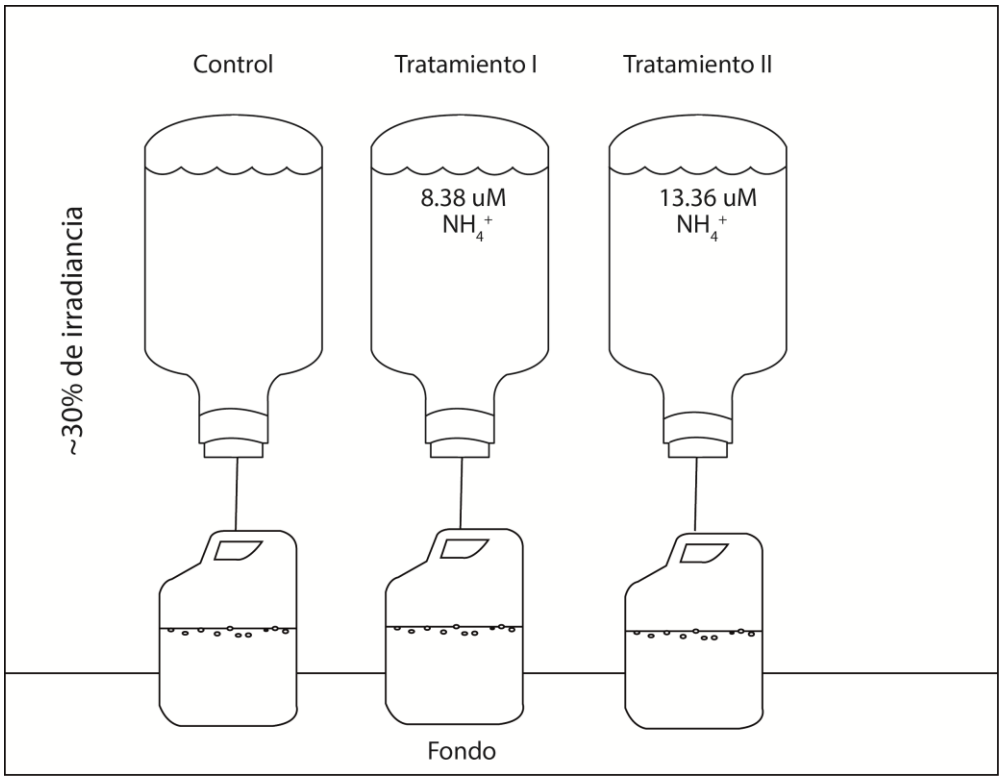


Figura 2. Disposición de los contenedores utilizados en el experimento. Se mantuvieron entre 1.5 a 2 m bajo la superficie.

6.5.1 Nutrientes

Para la determinación de la disponibilidad y el cambio en las concentraciones de nutrientes (nitrógeno y fósforo total e inorgánico y ácido silícico), se tomaron 250 ml de agua de los contenedores por los 10 días que duró el experimento tanto para amonio como para urea y fueron congeladas para su análisis en el laboratorio. Se utilizaron las siguientes técnicas espectrofotométricas para estimar la concentración de distintos nutrientes siguiendo protocolos estandarizados para el amonio (Solórzano, 1969); Nitratos (Morris y Riley 1963); Nitritos (método de Shinn modificado por Bendschneider y Robinson 1952); Fosfato reactivo (Murphy y Riley 1962) y ácido silícico (Grasshoff 1964 modificado por Grasshoff *et al.* 1983).

El análisis de nitrógeno total (NT) y fósforo total (FT) se realizó de acuerdo al método de digestión propuesto por Valderrama (1981) siguiendo los procedimientos previamente recomendado por Strickland y Parsons (1972).

6.5.2 Clorofila-*a*

Para determinar la concentración de Clorofila-*a*, se filtró cada muestra empleando una bomba de vacío y filtros de policarbonato Whatman (0.8 µm de poro). El volumen de filtración depende de la saturación del filtro (Wetzel & Likens, 2000). Para la extracción se utilizó acetona al 90%. El extracto se almacenó en oscuridad durante 24 h a 4 ºC. La medición espectrofotométrica de los extractos acetónicos se realizó en un equipo HP8453E. La concentración del pigmento se obtuvo utilizando las ecuaciones propuestas por Jeffrey & Humprey (1975).

6.5.3 Producción fitoplanctónica (Biomasa)

Como un estimador de producción fitoplanctónica (biomasa) por medio de la proporción de carbono/clorofila-*a* propuestos por Zeitzschel (1970) para el Golfo de California (37.8 ±16.1) se calculó el promedio de producción fitoplanctónica en el control y los tratamientos I y II.

6.5.4 Isotopos estables de N y C en el material orgánico particulado

El material orgánico particulado fue determinado por la filtración de un volumen de 250 ml a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F (tamaño de poro 0.7mm) previamente pre-combustionados y pesados. Después de filtrarse las muestras, los filtros se congelaron y almacenaron para su análisis. Los filtros nuevamente fueron secados y pesados, y se colocaron en cápsulas de estaño para ser analizadas en un espectrómetro de masas de razones isotópicas acoplado por medio de una interfaz con un analizador elemental. Los resultados del $\delta^{15}N$ se presentan en partes por mil (0/00) a partir de la ecuación de DeNiro y Epstein (1978):

$$\delta^{15}N\ o\ (^{0}/_{00}) = (\frac{R_{muestra}}{R_{estándar}} - 1) \times 10^{3}$$

donde R son las razones isotópicas de $^{15}N/^{14}N$ de la muestra y el estándar respectivamente.

6.6 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa Octave-4.2.1. Las gráficas se realizaron con el programa SigmaPlot versión 11. Se hicieron pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov para los diferentes tratamientos, las cuales rechazaron hipótesis nula de que los datos tienen una distribución normal de frecuencia.

Se realizó un análisis de Mann-Whitney para determinar si existen diferencias significativas entre las medianas de las concentraciones de los elementos entre las hembras lactantes y las demás categorías de la ballena azul, así como entre años, presas y entre las diferentes poblaciones de ballena azul.

Para la comparación de los tratamientos con el control del experimento se llevaron a cabo pruebas de Kruskall-Wallis por cada una de la siguientes variables ambientales: concentración de la Clorofila-a, NO_2^-, NO_3^-, NH_4^+, urea, PO_4^{3-} y SiO_4 y producción fitoplanctónica).

7 RESULTADOS

7.1 Composición de elementos traza de las heces

Se analizaron 41 muestras de heces secas recolectadas durante el invierno de 2002 y de 2009–2016. El análisis de las concentraciones de elementos traza muestra dos grupos de elementos traza que se diferencian por sus concentraciones (Figura 3). El primer grupo incluyó el Fe, Cu y Zn y tuvo mayores concentraciones y una gran variabilidad entre las muestras. El segundo grupo estuvo conformado por el Cd y Mn con menores concentraciones y menor variación de concentración entre las muestras de heces.

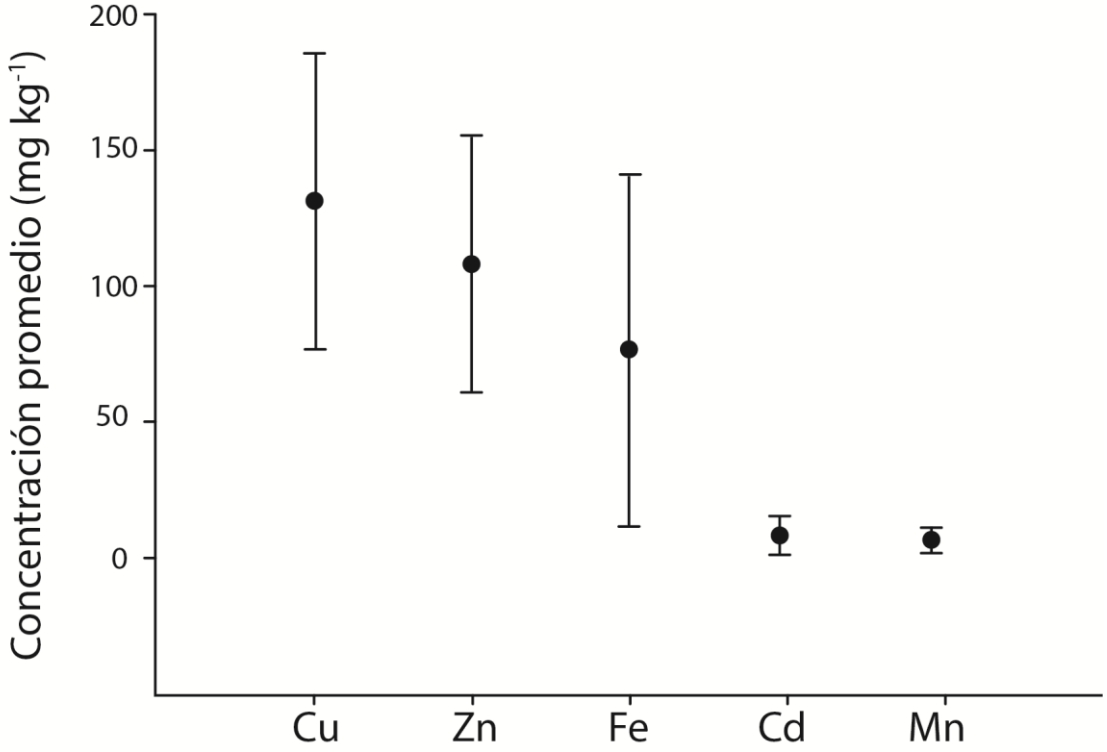


Figura 3. Concentraciones promedio y desviaciones estándar de los elementos traza contenidas en las muestras de heces de ballenas azules (n=41).

7.1.1 Variación de elementos traza entre categorías de ballenas

De las 41 muestras de heces de ballena azul, 7 fueron de hembras lactantes, 25 de hembras y 6 de machos. El resto de las muestras son de individuos que aún no se les ha asignado sexo. Las concentraciones promedio de cada elemento traza muestran la misma tendencia por categorías de ballena (Figura 4) con valores más bajo en el Cd y Mn, y más altos en Cu, Fe y Zn.

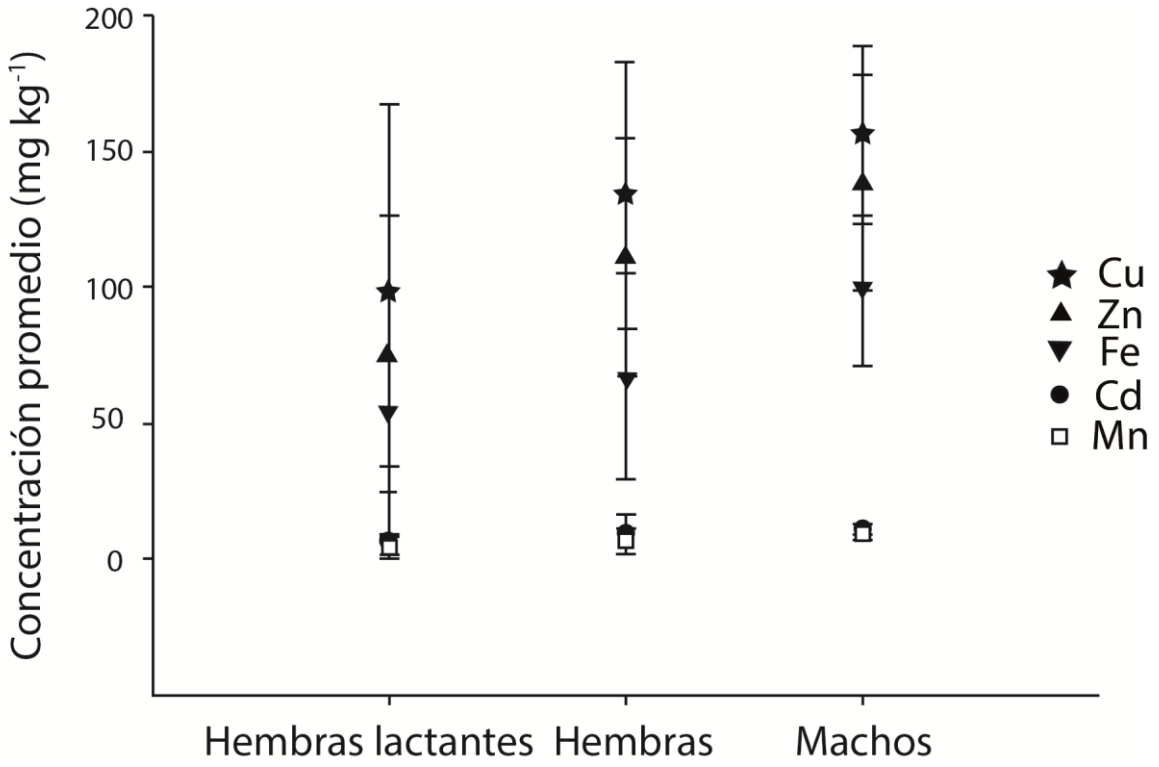


Figura 4. Concentración promedio y desviaciones estándar de los elementos por categorías de ballenas: hembras lactantes (n=7), hembras (n=25) y machos (n=6).

Aunque se observa una tendencia de mayores concentraciones de los elementos traza en heces en machos y hembras comparados con las hembras lactantes, las concentraciones promedios de todos los elementos traza entre categorías no son significativas ($p > 0.05$); excepto para el Cd contenido en las heces de los machos que fueron mayores en comparación de las hembras lactantes.

Tabla 1. Concentraciones promedio (mg kg^{-1}) y desviaciones estándar de los elementos en heces por categorías de ballenas.

Categorías	n	Cd	Cu	Fe	Mn	Zn
Hembras lactantes	7	5.66±4	100.75±66.56	54.14±44.74	4.4±3.99	75.59±50.77
Hembras	25	9.22±7.38	133.84±49.09	67.4±38.51	6.62±4.69	110.8±43.95
Machos	6	10.75±2.34	155.95±32.72	98.55±27.39	9.67±2.56	138.62±39.66

7.1.2 Variación de elementos traza entre años

Se observa dos periodos de años con comportamientos de concentración de elementos en heces de ballena azul, distintos y separados por el año 2011 (Figura 5), cuando se detectaron concentraciones promedio de todos los elementos traza muy bajas.

Dada esta separación visual, se decidió agrupar las muestras en dos grupos (antes del 2011 y después del 2011), excluyendo el 2011 para comprobar estadísticamente estas diferencias visuales. Se encontraron diferencias significativas ($p<0.0001$) para todos los elementos exceptuando Cd entre los dos periodos. Teniendo el periodo antes de 2011 con menores concentraciones y después de 2011 con mayores concentraciones.

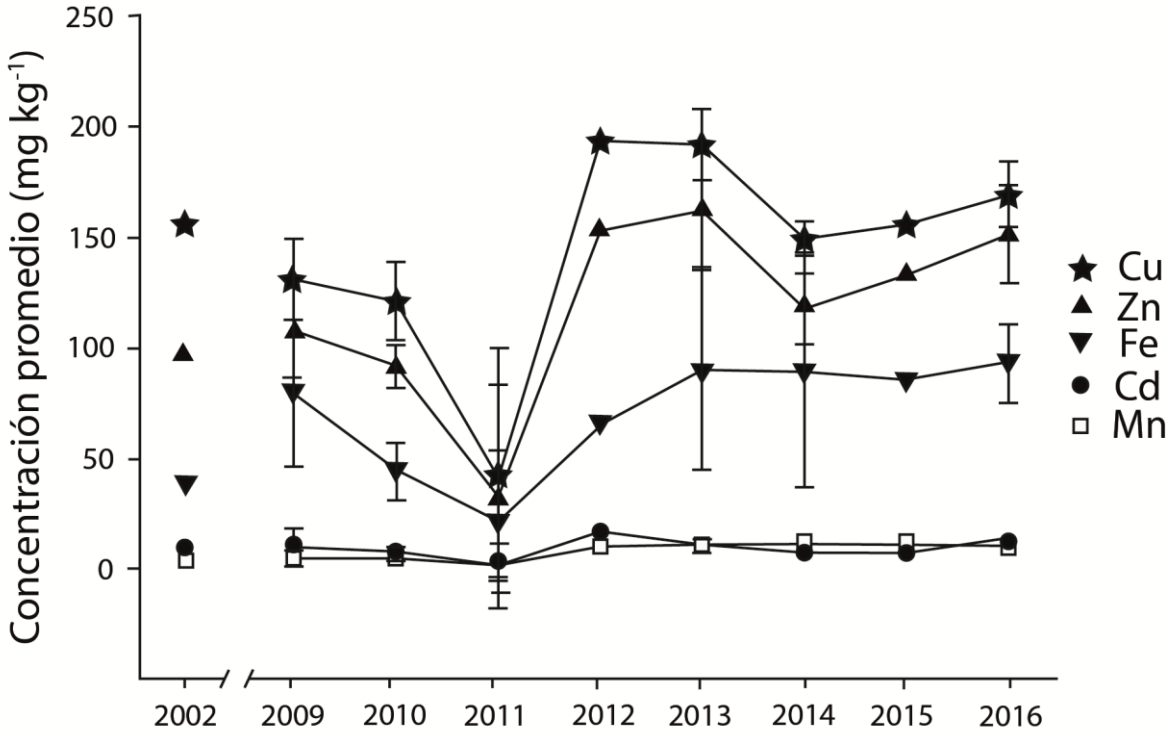


Figura 5. Concentración promedio de cada elemento en las heces con sus desviaciones estándar entre años de muestreo (n=41).

7.1.3 Variación de elementos traza entre presas dominantes

Con base en el conocimiento de las presas principales de la ballena azul en el la región suroeste del Golfo de California (Del Ángel-Rodríguez, 1997; Jiménez-Pinedo, 2010) se realizaron un análisis de la concentraciones de elementos traza en el krill (*Nyctiphanes simplex)* y el pez mesopelágico mictófido (*Benthosema panamense*) recolectados en la misma región (Figura 6). Ambas presas presentaron concentraciones inversas de elementos trazas analizadas. El Zn, Cu y Fe tuvieron las mayores concentraciones en las muestras de krill mientras que el Cd y Mn fueron mayores en las muestras de mictófidos ($p<0.0001$).

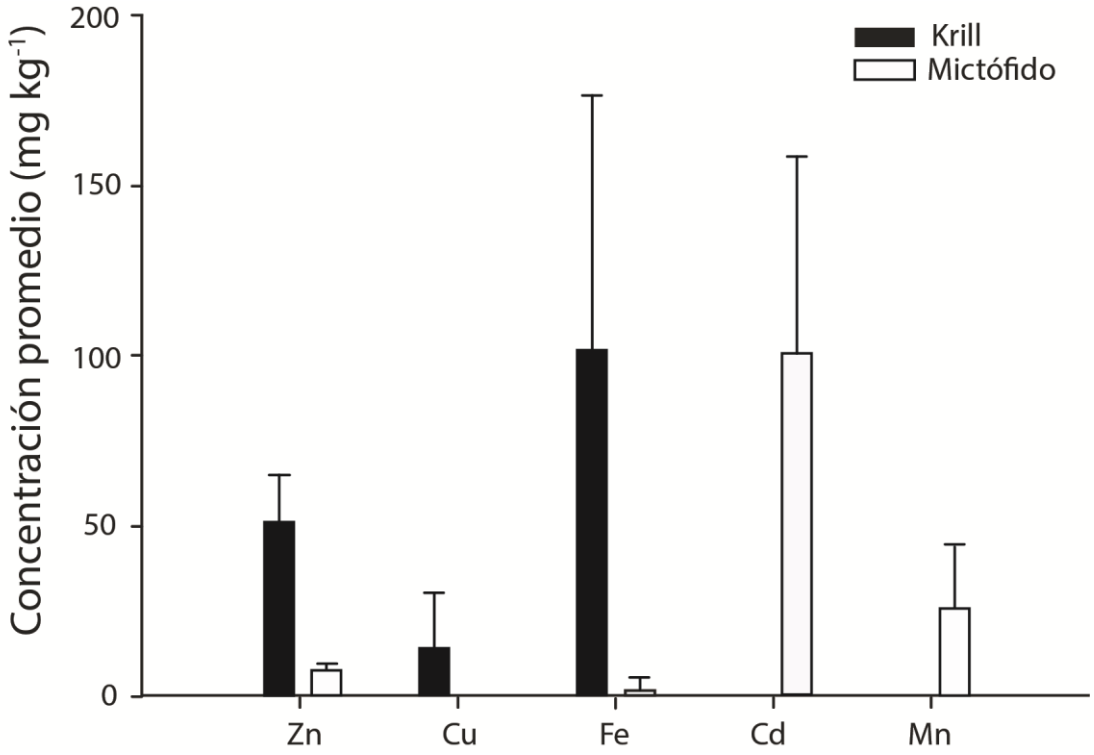


Figura 6. Concentraciones promedio y desviación estándar de los elementos traza en krill (n= 14) y mictófidos (n=5).

7.1.4 Comparación entre áreas de estudio

Se compararon los resultados de elementos trazas obtenidos en este trabajo con resultados en heces de ballena azul y su presa (*Euphausia superba*) en el Océano Antártico (Tabla 1). La diferencia entre las concentraciones de los elementos traza en el krill dominante entre regiones latitudinales fue notoria, con valores de 1.5 a 4 veces mayores en el Océano Antártico. Esto tiene una correlación positiva con la concentración de estos elementos en las heces de ballena azul ($p = <0.001$). Las concentraciones de los elementos traza en las heces de ballena azul de ambas áreas son mayores que las contenidas en el tejido del krill, excepto para el Fe reportado por Ratnajarah *et al.* 2014. Las concentraciones de elementos en los mictófidos son inversas a las heces y el krill. Teniendo altas concentraciones en el Cd (100.3 ±58 mg kg^{-1}) y Mn (25.34 ±18 mg kg^{-1}), mientras que Fe (8.3 ±4.3) y Zn (9.3 ±4) son comparativamente menores y Cu fue indetectable.

Tabla 2. Concentraciones promedio (mg kg^{-1}) y desviaciones estándar de los elementos traza en heces de ballena azul (*Balaenoptera musculus*) y tejido de sus presas dominantes en el Golfo de California (*Nyctiphanes simplex* y *Bentosema panamense*) y el Océano Antártico (*Euphausia superba*). Se incluyeron dos especies de mictófidos (*Diaphus effulgens* y *D. hudsoni*) para comparar las concentraciones de elementos traza en ellos. Los elementos sin datos significan que las concentraciones no fueron detectables en las muestras.

Especie		n	Cd	Cu	Fe	Mn	Zn
B. musculus	Presente estudio	41	9.27±6.6	143.29±37.8	84.64±63.3	7.30±4	119.39±33.1
	Ratnajarah *et al.* 2014	15	29.7±8.6	312.20±98.6	161.8±106.5	16.20±9	607.20±66
N. simplex	Presente estudio	14	-	19.46±17.4	100.47±90.5	-	55.27±17.4
E. superba	Ratnajarah *et al.* 2014	5	4±0.1	98.0±0.6	174.3±0.5	17.7±0.1	275.7±0.5
B. panamense	Presente estudio	5	100.3±58	-	8.3±4.3	25.34±18	9.3 ±4
D. effulgens	Fernandez *et al.* 2014	ND	-	-	80±0.8	-	-
D. hudsoni	Fernandez *et al.* 2014	ND	-	-	142±1.1	1±0.2	-

7.2 Experimento *in situ*

Durante el experimento *in situ* se notaron diferencias en el comportamiento los indicadores indirectos (pH y porcentaje de saturación de oxígeno) de la productividad primaria entre los tratamientos en comparación con el control (Figura 7).

En el contenedor del control fue disminuyendo el pH durante el transcurso de los días. Debido a que es un sistema cerrado no hubo ingreso de nuevos nutrientes que estimulen la producción del fitoplancton por lo tanto la respiración fue mayor. La disminución del porcentaje de saturación de oxígeno fue gradual, pero se mantuvo cercano al 100% durante los 9 días dentro del contenedor.

Ambos tratamientos tuvieron una disminución en el pH y porcentaje de saturación de oxígeno al segundo día debido a la adición de las heces de ballena azul. Sin embargo, a partir del tercer día aumentó del pH, manteniendo valores cercanos a los observados durante el primer día. El porcentaje de saturación de oxígeno aumentó 30% en comparación al tratamiento control en el quinto día y su disminución posterior, lo cual indica que la mayor producción fitoplanctónica ocurrió ese día.

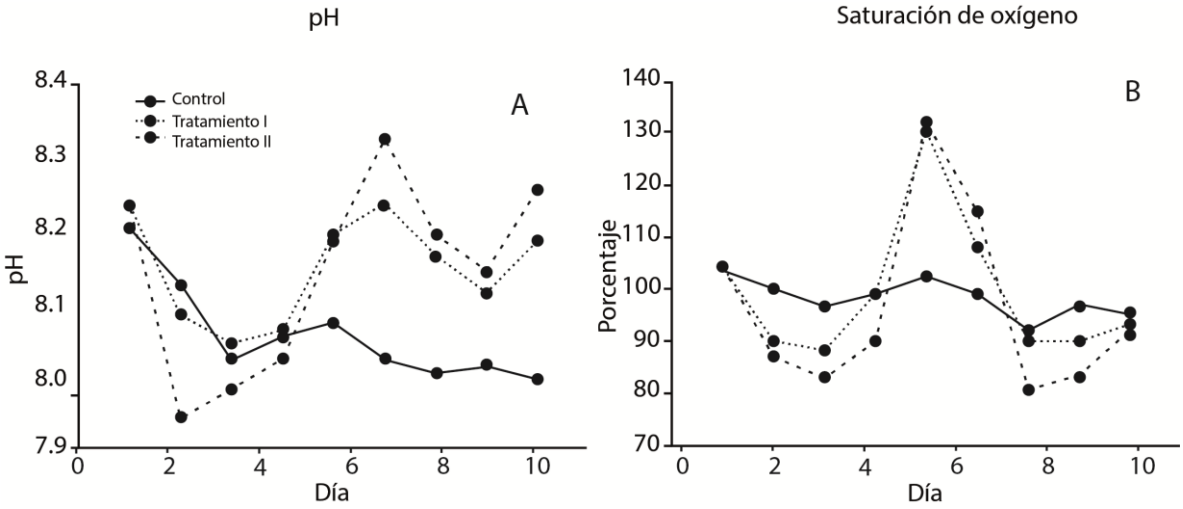


Figura 7. Valores diarios de del pH (A) y porcentaje de saturación de oxígeno (B) en el control y los tratamientos durante 10 días de monitoreo dentro de los contenedores.

7.2.1 Nutrientes

Se analizaron los macronutrientes (NO_2^-, NO_3^-, NH_4^+, urea, PO_4^{3-} y SiO_4) en todos los contenedores durante los diez días del experimento. Debido a que la captación del nitrógeno por el fitoplancton depende de la composición específica, los nutrientes nitrogenados totales (NNT) se analizaron de forma separada: nitrógeno inorgánico disuelto (NID: NO_2^-, NO_3^- y NH_4^+) y por diferencia nitrógeno orgánico total filtrado (NOT), analizando únicamente la urea. Los valores iniciales del experimento mostraron que, del total de nutrientes, el NOT fue la forma nitrogenada dominante (43%) y representó aproximadamente el doble del NID

(28%). Mientras que el SiO_4 aportó un 26 % y el PO_4 solo un 3% (Figura 8-A). Dentro del componente del NOT la urea constituyó el 20% (Figura 8-B) y el NH_4^+ un 83% del NID (Figura 8-C).

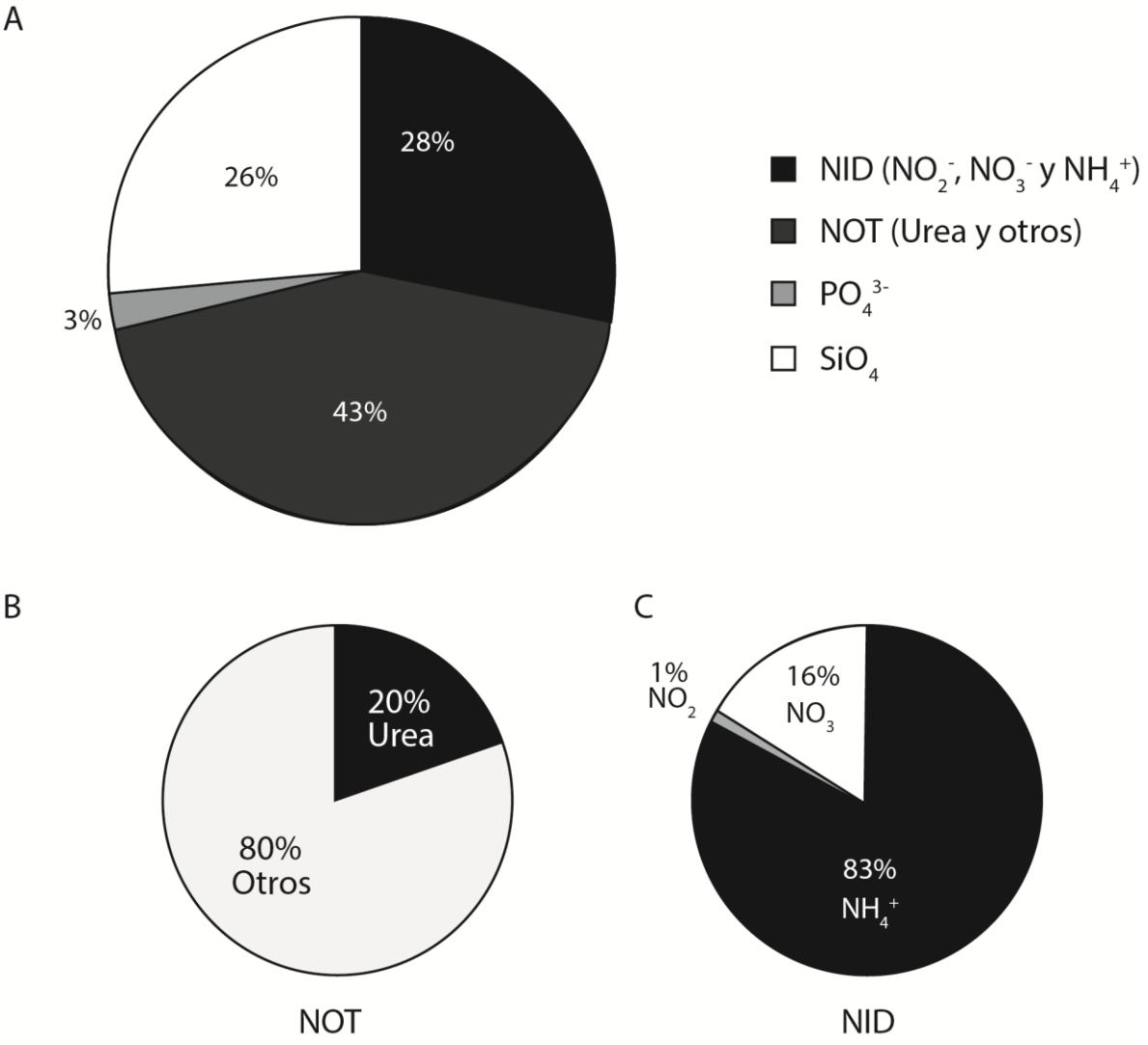


Figura 8. Porcentajes de nutrientes iniciales (A). Porcentaje inicial de NOT (B). Porcentaje inicial de NID (C).

Desde el segundo día se detectó la liberación de nutrientes en ambos tratamientos (Figura 9). El fosfato (PO_4^{3-}) tuvo el mayor porcentaje de concentración, seguido por el NOT y NID. El ácido silícico (SiO_4) se encontró en menor proporción (3%). El porcentaje promedio de los tratamientos aumenta en la proporción del aporte de urea (Figura 10-A) y del N H_4^+ (Figura 10-B).

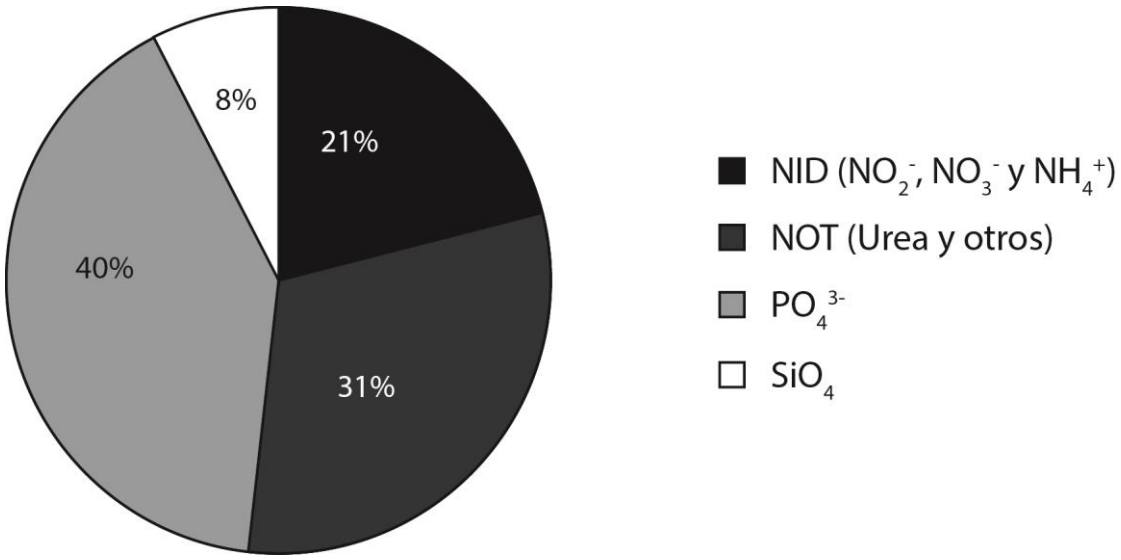


Figura 9. Porcentaje promedio de nutrientes en los tratamientos.

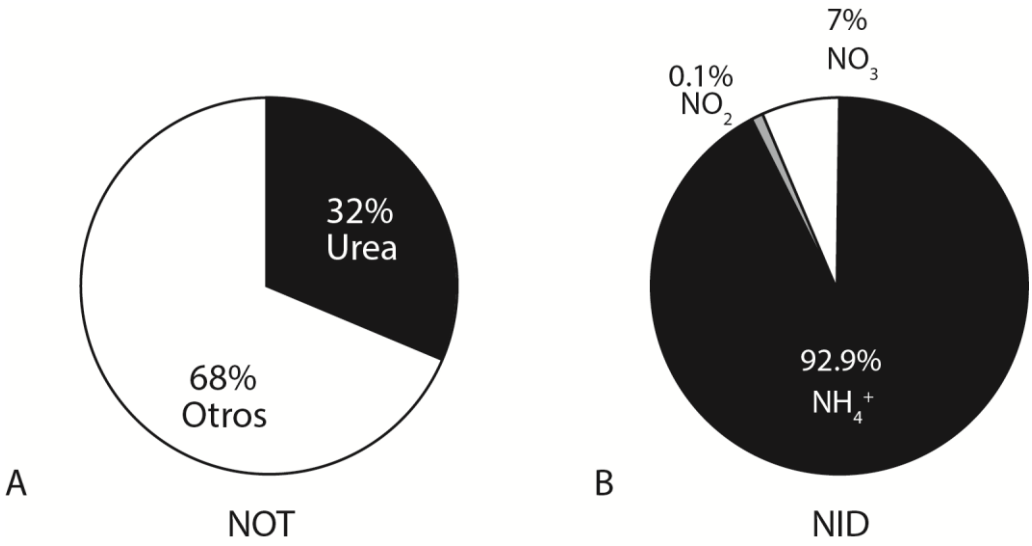


Figura 10. Porcentaje promedio de los nutrientes nitrogenados en los tratamientos para el nitrógeno orgánico total filtrado (NOT) (A) y el nitrógeno inorgánico disuelto (NID) (B).

El seguimiento del NID muestra diferencias temporales en las concentraciones de los macronutrientes de ambos tratamientos a comparación del control (Figura 11). A partir del segundo día se detectó la liberación de NID en ambos tratamientos siendo 3 y 5 veces más altos que el control. En ambos tratamientos se

encontraron disminuciones en las concentraciones de NID en los días 4, 6 y 10; asociados la utilización de macronutrientes por la comunidad fitoplanctónica.

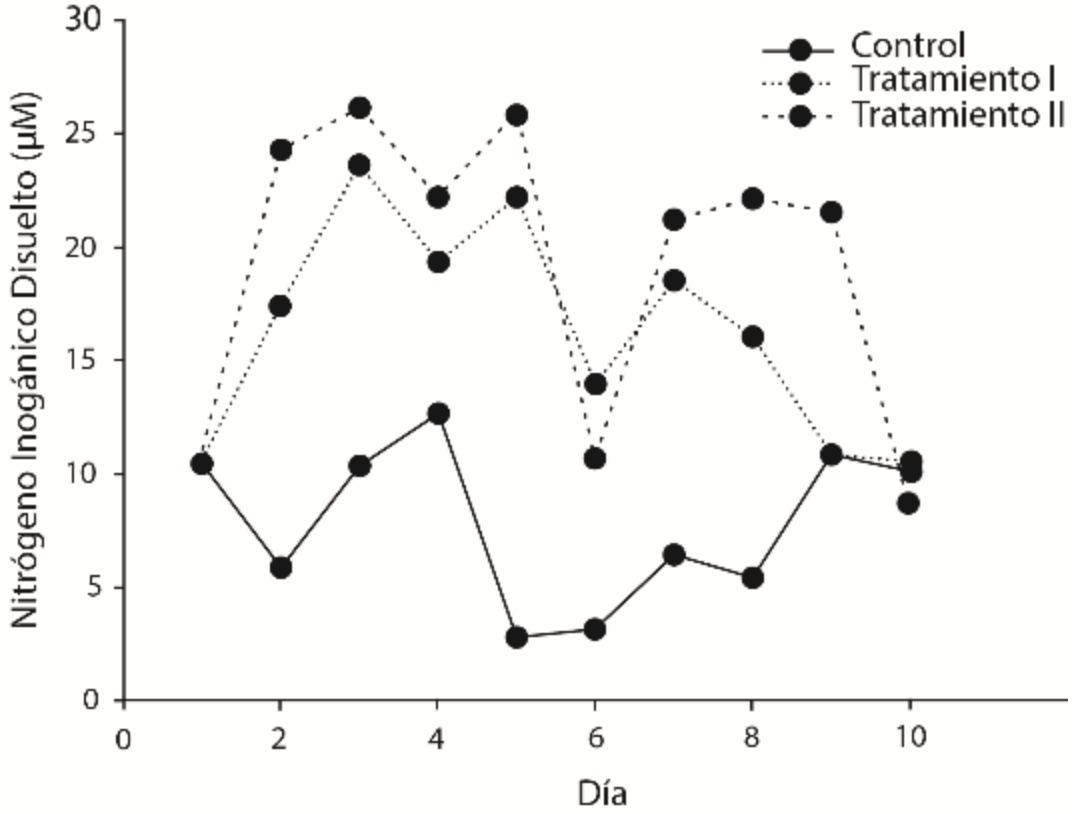


Figura 11. Concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) en el control y los tratamientos I y II enriquecidos con heces fecales de ballena azul.

7.2.2 Concentración de clorofila-*a*

La concentración de clorofila-*a* tuvo fue significativamente distinto en los dos tratamientos a comparación del control a partir del cuarto día (p=0.001). Durante el sexto día se registraron las mayores concentraciones de clorofila-*a* (Figura 12), siendo 3 veces más en el tratamiento I y 5 veces más en el tratamiento II en comparación con el control con valores significativamente diferentes entre sí (p=0.001).

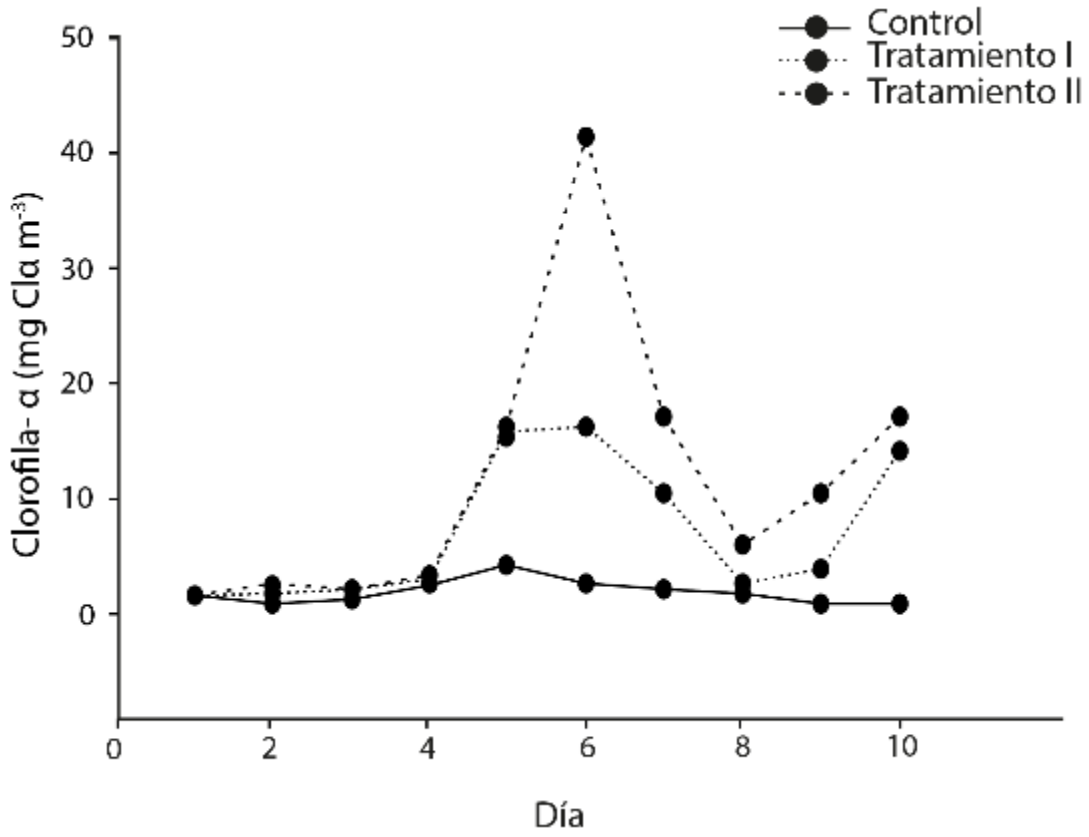


Figura 12. Variabilidad diaria de la concentración de clorofila-a durante diez días del experimento (control, tratamiento I y II).

7.2.3 Producción fitoplanctónica

La estimación de producción fitoplanctónica se hizo con base a los datos propuestos para el Golfo de California de Zeitzschel (1970). Se estimaron las medias y desviaciones estándar de biomasa (mg C m^{-3}) del control y de los tratamientos (Control: 76.06 ±38.38, Tratamiento I: 275.22 ±237.59 y Tratamiento II: 439.39 ±464.35), los cuales mostraron diferencias significativas entre sí (p=0.011).

Al comparar los nutrientes con la producción fitoplanctónica (Figura 13), se observa una utilización de los nutrientes previo a los días donde aumento la producción (sexto y décimo día). En el tratamiento II, la urea tuvo una concentración máxima al mismo tiempo. Esto puede ser debido a que la

comunidad fitoplanctónica aumentó de tal forma que los desechos de los mismos organismos se ven reflejados en la urea. La utilización del PO_4^{3-} no es tan evidente como en el caso de ambos nutrientes nitrogenados.

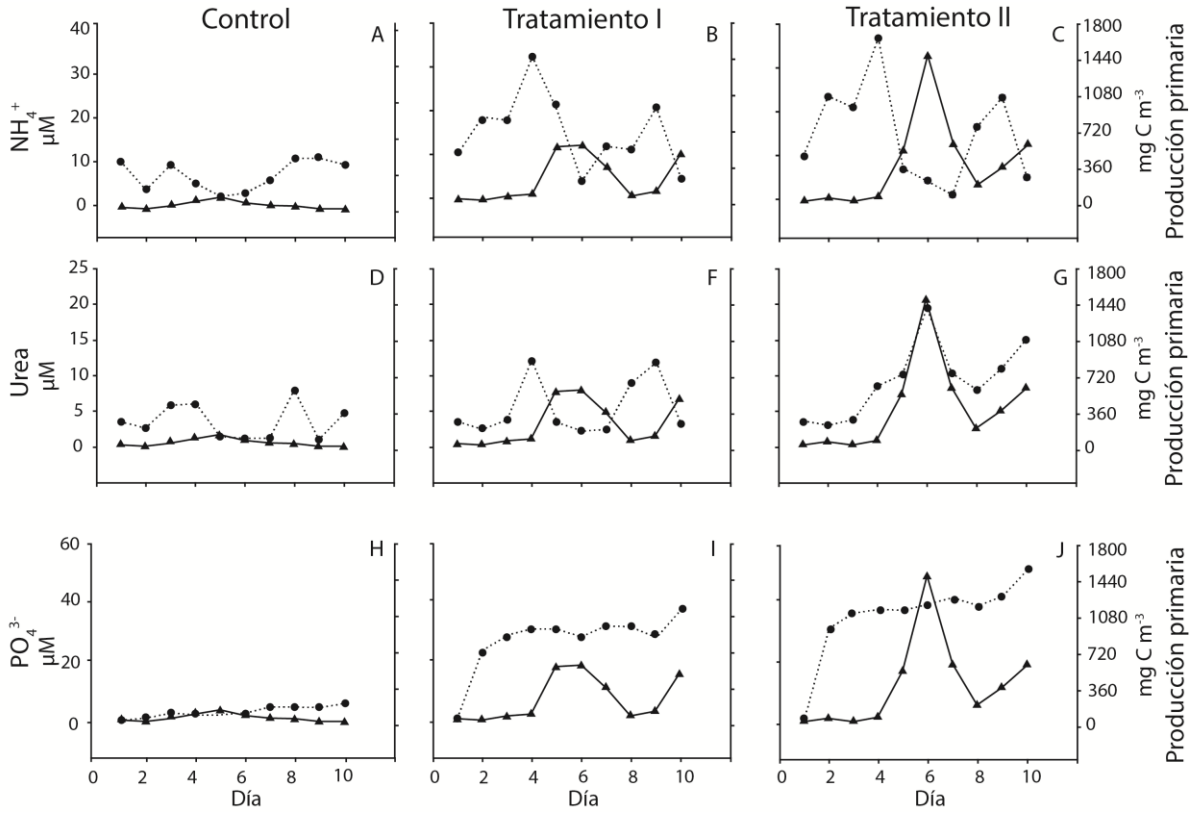


Figura 13. Concentraciones de los nutrientes, línea punteada (●) en relación a la producción primaria, línea sólida (▲). Las columnas representan el control y los tratamientos I y II mientras que las filas representan los nutrientes en relación a la producción (biomasa).

El silicato (SiO_4) tuvo una variabilidad diaria diferente a los demás nutrientes, hubo liberación por parte de las heces el primer día y los siguientes hubo consumo de SiO_4 disminuyendo progresivamente conforme pasaron los días del experimento (Figura 14). En los tratamientos I y II la disminución fue mayor que en relación al control debido a que la producción fitoplanctónica fue aumentando estos contenedores.

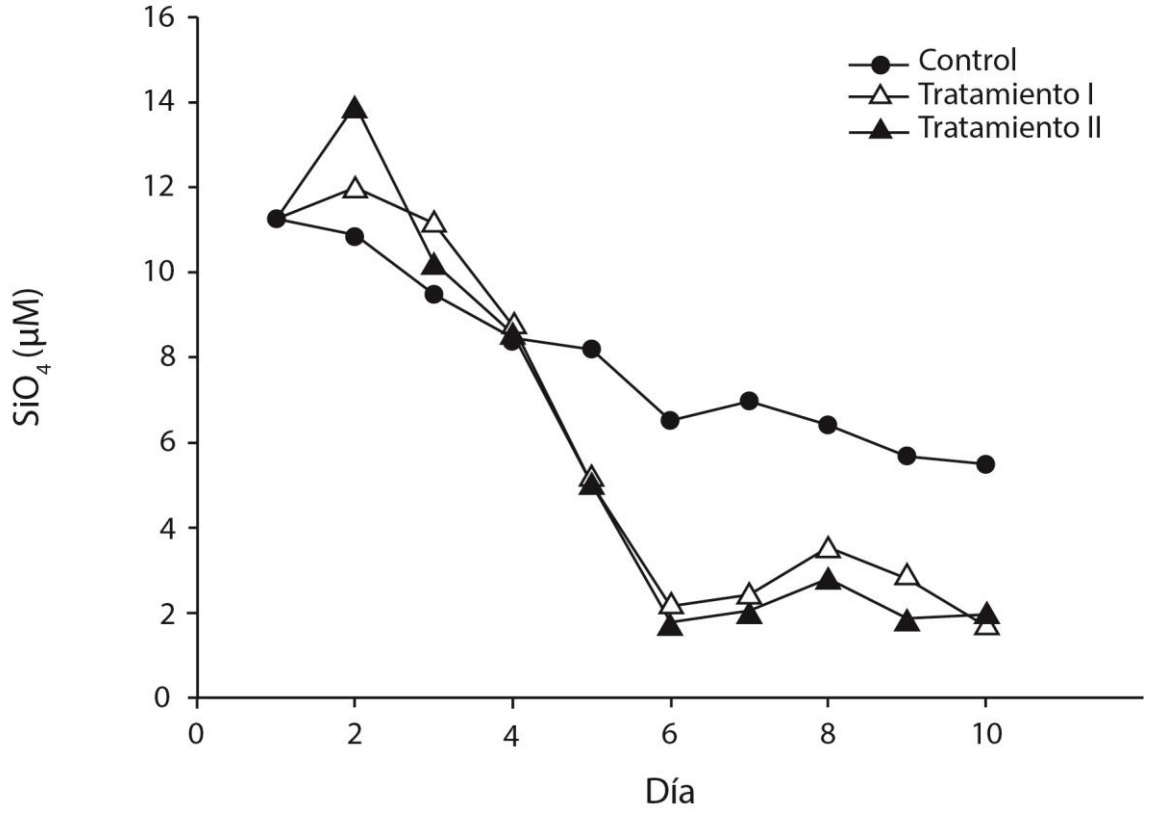


Figura 14. Concentración (µM) de SiO_4 durante los días del experimento en el control, tratamiento I y tratamiento II.

Se encontraron diferencias significativas en los valores de producción primaria ($p=0.011$) y los nutrientes ($p_{NH_4}=0.0312$, $p_{UREA}=0.0191$ y $p_{PO_4}=0.0356$) entre el control y los tratamientos. La liberación de SiO_4 mostró diferencias significativas entre el control y los tratamientos ($p=0.003$) a partir del cuarto día.

La proporción N:P en el sitio fue de 9.07 (Figura 15). No se encontró relación entre la concentración de NH_4^+ y de PO_4^{3-} en la regresión lineal ajustada a los tres tratamientos ($p=0.09$).

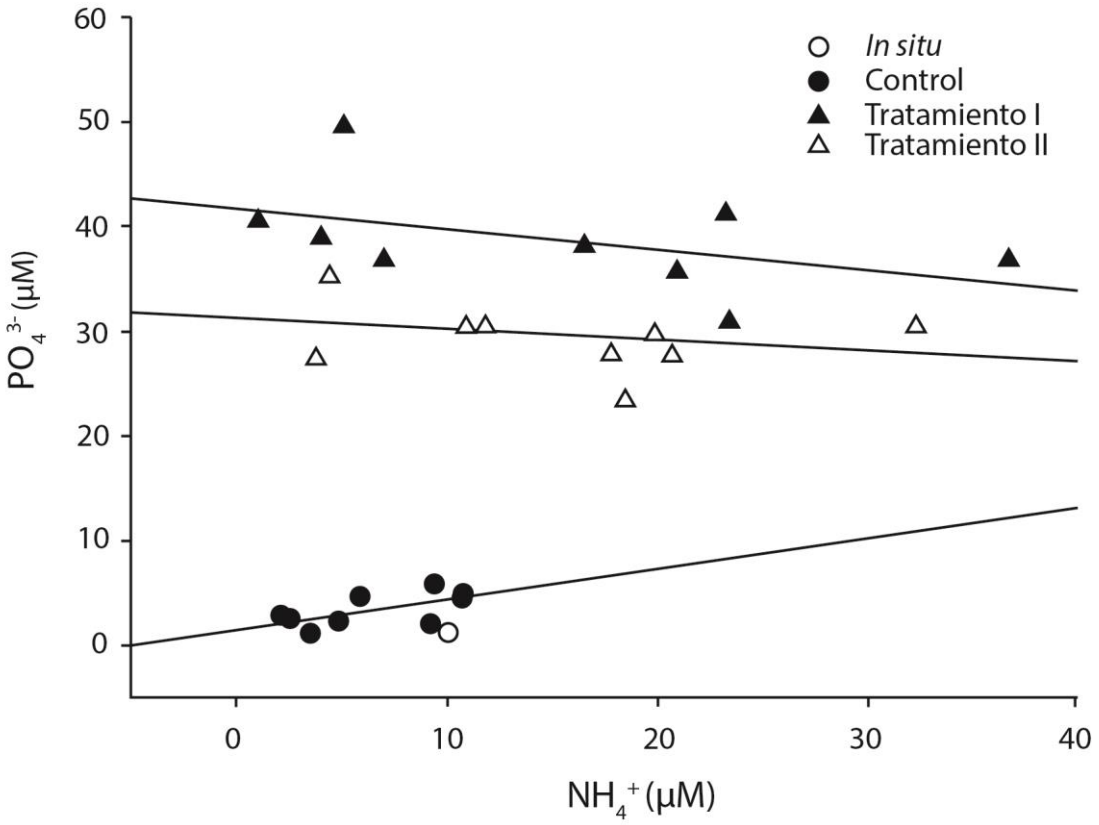


Figura 15. Regresión lineal entre NH_4^+ y PO_4^{3-} del control (R^2=0.32), tratamiento I (R^2=-0.05) y tratamiento II (R^2=0.1).

7.2.4 Isotopos estables de N y C en el material orgánico particulado

Se analizaron las razones isotópicas del $\delta^{15}N$ y $\delta^{13}C$ en el material orgánico particulado (MOP) del sitio de muestreo, en las heces de ballena azul y en el seguimiento de las incubaciones de fitoplancton realizadas en el control y en los dos tratamientos I y II (Tabla 3). Se encontraron diferencias significativas entre los valores de $\delta^{15}N$ y $\delta^{13}C$ del control y los tratamientos I y II ($p<0.001$).

Tabla 3. Valores promedio de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ para las heces de ballena azul y el material orgánico particulado (MOP) del sitio.

Tipo de muestra	$\delta^{13}C$	$\delta^{15}N$
Heces	-21	13.1
MOP	-23.8	10.1

Control	-23.4	10.7
Tratamiento I	-23.3	10.8
Tratamiento II	-23.1	10.9

Los valores isotópicos del $\delta^{15}N$ de los tratamientos durante primer día después de la adición de las heces demuestran un valor intermedio entre los valores del sitio y los valores de las heces (Figura 17). A partir del cuarto día los valores isotópicos comienzan a aumentar demostrando que hubo una utilización de nutrientes por parte del fitoplancton de los nutrientes remineralizados provenientes de las heces.

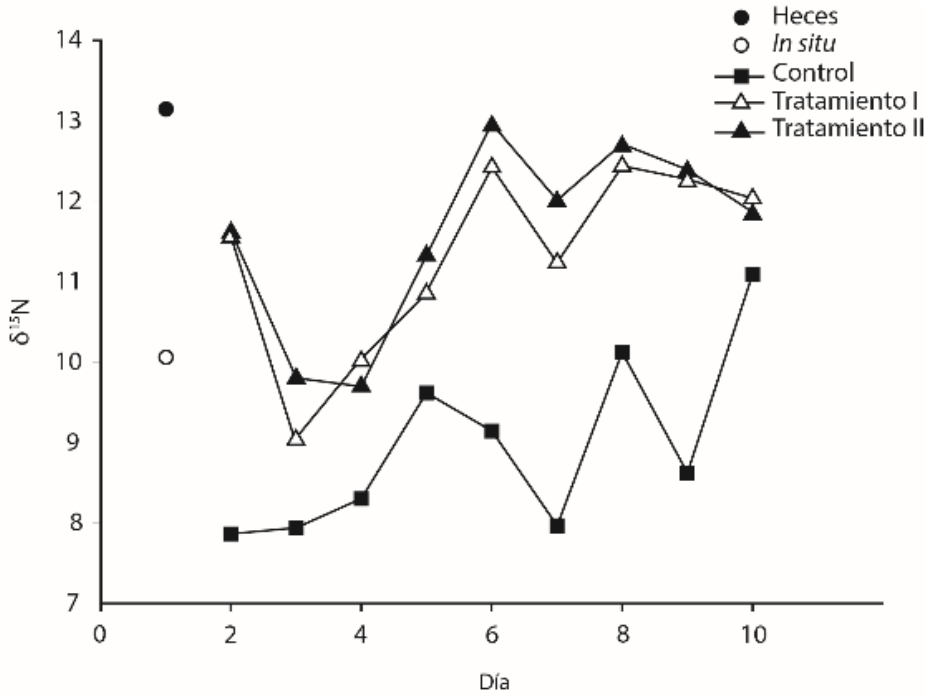


Figura 16. Valores de las razones isotópicas del nitrógeno (δ15N) de las heces (círculo negro), del MOP del sitio (círculo blanco) y de los tratamientos (control: cuadrado negro, tratamiento I: triángulo blanco y tratamiento II: triángulo negro) durante los 10 días del experimento.

9 DISCUSIÓN

9.1 Composición de elementos traza de las heces

Durante los últimos años se han buscado diferentes enfoques para poder estimar el aporte que tiene el proceso de “Whale pump” en latitudes altas donde se congregan diversos mamíferos marinos. Se ha sustentado el efecto ecosistémico de estos aportes mediante modelos predictivos que utilizan los datos de abundancia poblacional durante la explotación de las poblaciones de cetáceos y después de ser prohíba su caza comercial (Nicol *et al.*, 2010; Ratnajarah *et al.*, 2014; Wing *et al.*, 2014).

En este estudio el análisis de las concentraciones de Cd, Cu, Fe, Mn y Zn en las heces de ballena azul del Golfo de California muestra dos grupos de elementos: uno con altas concentraciones y mayor variabilidad (Cu, Fe y Zn) y otro con bajas concentraciones y considerablemente baja variabilidad entre heces (Cd y Mn). Las concentraciones de Fe: 172.4±106.5 y 161.8±106.5, en los estudios previos (Nicol *et al.*, 2010; Ratnajarah *et al.*, 2014) muestras altas desviaciones estándar, evidenciando la alta variación de concentración de elementos entre individuos posiblemente asociados a la biomasa y tipo de presas (especies de krill) consumidas.

Las diferencias entre las concentraciones de elementos traza en heces son el reflejo de la estrecha relación entre su concentración en el océano, en sus presas y el requerimiento de elementos específicos ya que sus magnitudes en los sistemas vivos están magnificados a las concentraciones relativas en los océanos (Frieden, 1985). La distribución de los elementos en los océanos actuales no refleja la distribución de una época anterior cuando la atmósfera del planeta no era altamente oxidante y el hierro disuelto habría estado presente en el estado de oxidación de Fe (II) que es el más soluble (Ferris & Usher, 1983). Esto explicaría la frecuencia del hierro en los ciclos bioquímicos a pesar de su alta dilución en el agua.

Pero la concentración elemental ambiental no es el único factor determinante para las concentraciones de elementos traza en los organismos. Además de la solubilidad, la reactividad de los elementos es otro factor crucial para su utilización en sistemas biológicos (Williams & DaSilva, 1978). Los metales como el hierro y el cobre cambian fácilmente sus estados de oxidación para que también puedan portar electrones catalíticos. Producen sustratos oxidados que luego pueden ser utilizados en una variedad de procesos metabólicos.

El Cu, Fe, Mn y Zn son elementos esenciales ya que su deficiencia en un sistema orgánico causa problemas en sus funciones vitales (Mertz & Cornatzer 1971). El Cd, es un elemento traza ausente en el cuerpo de un organismo recién nacido pero se bioacumula durante su tiempo de vida, por lo tanto la concentración depende de la exposición del organismo al elemento en el medio (Underwood, 1977).

Los organismos autótrofos del océano asimilan elementos traza para diversos procesos enzimáticos como la fotosíntesis y quimiosíntesis (Sunda, 2012). Los elementos traza tienen diferentes formas oxidativas de las cuales solo algunas son utilizadas durante estos procesos. Existen diversas fuentes abióticas y bióticas que aportan elementos traza al medio marino, entre ellos las heces de ballenas en donde podrían encontrarse en formas no oxidadas o bien son rápidamente transformados por acción bacteriana a formas biodisponibles y así ser utilizados por el fitoplancton al momento de su excreción o poco tiempo después (Roman *et al.,* 2016).

9.1.1 Variación de elementos traza entre categorías de ballenas

Aunque los requerimientos fisiológicos de los elementos traza en las ballenas azules aún no ha sido estudiados, se asume que estos mamíferos respondan de manera similar al humano y animales domesticados donde se ha estudiado estos procesos. Al igual que las mujeres embarazadas, las ballenas preñadas requieren destinar nutrientes del cuerpo a los procesos del desarrollo y crecimiento del feto y lactancia (Lavery & Roudnew, 2014; Shen *et al.*, 2015). La leche materna humana

tiene bajos contenidos minerales (0.2%), pero los contenidos de minerales en las ballenas es mayor (1.2%, Ohta *et al.*, 1953). Por lo tanto, a menos que se tenga algún suplemento alimenticio que complemente la dieta, las hembras preñadas suelen tener deficiencias de estos elementos traza en su cuerpo (Lewika *et al.*, 2017).

De acuerdo a esta premisa (Lavery & Roudnew, 2014), se planteó la hipótesis que las concentraciones de los elementos traza en las heces de las hembras lactantes de ballena azul fuesen menores que las demás categorías de ballenas. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo rechazaron esa hipótesis porque todos los individuos de ballenas, independiente mente de su condición reproductiva y sexo tuvieron concentraciones de elementos traza semejante en sus heces (Tabla 3).

Se destaca la alta variabilidad en las concentraciones de cada elemento traza entre individuos y el pequeño tamaño de muestras por categoría para poder comprobar que el aporte de elementos traza es menor en las hembras lactantes.

Los trabajos previos (Nicol *et al.,* 2010; Ratnajarah *et al.,* 2014), reportaron variación en las concentraciones de elementos traza en heces entre diferentes especies de cetáceos, pero no hacen la distinción entre las categorías de ballenas. Esta alta variación entre individuos podría deberse a la eficiencia de la absorción intestinal de los elementos traza, ya que esta disminuye en los individuos más viejos incluso en especímenes saludables (Buncker *et al.*, 1984). Esto influye en tasa de incorporación de elementos traza a los tejidos y la liberación de desechos, debido a que en la presente investigación no se hizo distinción entre grupos de edades.

Por medio de modelos se han estimado que los aportes de Fe de las poblaciones de ballenas azules del Océano Antártico varían de 1.8×10^4 a 3.5×10^4 kg año^{-1} para adultos de ballenas azules, mientras que los juveniles contribuyen 3.3×10^3 kg año^{-1} y las hembras lactantes 4.4×10^3 (Lavery & Roudnew, 2014). Esto se ha

llevado a cabo utilizando un modelo modificado de rendimiento excedente, que realiza estimaciones hipotéticas del aporte de Fe en el Océano Antártico (sin mediciones directas en muestras de heces de ballena azul).

9.1.2 Variación de elementos traza entre años

Las diferencias entre los dos periodos de años se dividieron por valores considerablemente bajos registrados en el 2011 (n=7). Estas diferencias podrían ser explicadas por cambios en el ambiente (ENSO, intensidad de vientos, lluvias, etc.) y/o cambios en la cantidad de consumo o tipo de presas. Estos cambios pueden tener un efecto cascada afectando a la transferencia trófica de los elementos traza (Soto-Jiménez, 2011).

En un estudio previo se reportó una disminución temporal en la concentración de clorofila-*a* promedio (2.4±1.3 mg m^{-3}) durante 2010 en el Golfo de California, seguido por un aumento en el 2011 (3.4±1.8 mg m^{-3}) (García-Morales *et al.*, 2017). Esto fue causado por las temperaturas moduladas por la influencia de fenómenos de gran escala en el Pacífico como ENSO y PDO (García-Morales *et al.,* 2017). El 2011 fue un año La Niña asociado con alta productividad primaria (García-Morales *et al.*, 2017), y aunque las condiciones climáticas son propicias para la productividad primaria, la disminución en las concentraciones de elementos traza pueden ser reflejo desfasado de lo sucedido el año previo en el Golfo.

La ballena azul era considerada una especie estenófaga que se alimentaba exclusivamente de varias especies de eufáusidos (Yochem & Leatherwood, 1985). Sin embargo, Jiménez-Pinedo (2010) reportó a la presencia de DNA de peces de la familia Mictophidae y eufáusidos *Nyctiphanes simplex* en 41 muestras de heces analizadas de ballena azul. Debido a limitaciones analíticas del ADN, aún persiste la duda si la similitud entre la proporción de DNA de ambas presas es representativa de la biomasa de estas presas consumidas. Durante fenómenos que afectan la temperatura del mar se ven cambios en la productividad que afecta la trama trófica y la disponibilidad de presas de la ballena azul.

Esto puede ocasionar que la ballena azul deprede otras especies que tiene contenidos de elementos traza diferentes a su presa común. Estudios anteriores han demostrado que las concentraciones de elementos traza son diferentes entre taxas (Rainbow, 2007; Guérin *et al.,* 2011), aun siendo colectados en el mismo sitio (Raknuzzaman *et al.,* 2016). El metabolismo de los organismos está adaptado a los ambientes en los cuales habitan y el tipo de alimentación que consumen (Fowler, 2002). Esto se ve reflejado en la calidad nutricional de las presas.

En 2015 se reportó presencia de salpas y ctenóforos en el Parque Nacional Bahía de Loreto y la recolecta de heces no se pudo llevar a cabo debido a que la consistencia de las heces era demasiado líquida para detectarla y recolectarla (Casillas-López, 2016). Esta observación sugiere que posiblemente las ballenas se alimentaban en parte de las salpas y ctenóforos presentes en altas densidades. Roméo *et al.* (1992) hicieron la evaluación de las concentraciones de elementos traza en diferentes grupos taxonómicos de organismos en el Mediterráneo. Los crustáceos tuvieron la mayor concentración de elementos traza mientras que las salpas y ctenóforos tuvieron comparativamente menores concentraciones. Los registros del presente estudio durante el 2014 y 2015 forman parte del grupo de años con mayores concentraciones de elementos traza, muestran una disminución en la concentración de Cu y Zn en comparación de los demás años de este periodo (Fig. 5).

9.1.3 Variación de elementos traza entre presas dominantes

Las concentraciones de elementos trazas en las presas de ballena azul del Golfo de California es distinto en eufáusidos y en peces mictófidos (Tabla 1). Algunos elementos traza fueron indetectables por el equipo utilizado, quedando en duda si están ausentes en extremadamente baja concentraciones en los tejidos de los mictófidos. Estos son resultados similares en las observadas en otras especies de mictófidos (*Diaphus effulgens* y *D. hudsoni*) (Fernandez *et al.* 2014). El krill analizado tuvo mayores concentraciones de elementos traza esenciales (Fe y Zn) mientras que los mictófidos tuvieron altas concentraciones de Cd y Mn. Todos

estos elementos están considerados potencialmente tóxicos para mamíferos en altas concentraciones (Underwood, 1977).

Las concentraciones de Fe de krill subtropical (presente estudio) y krill Antárctico Ratnajarah (2014) son mayores que las encontradas en las heces de ballena azul. Esto indica que no existe bioacumulación de hierro como se ha observado en el resto de los elementos. Los crustáceos de nivel trófico inferior son capaces de absorber hierro de su dieta y del agua circundante a través de sus branquias u otras cutículas permeables (Marsden y Rainbow 2004). La captación de metales del agua ocurre por adsorción del elemento sobre las superficies de los organismos o absorción a través de las superficies corporales (por ejemplo, tegumentos, agallas y paredes intestinales), o una combinación de ambos procesos (Fowler, 2002). Existen variaciones en las concentraciones de cada elemento traza de diferentes taxa dependiendo de su capacidad y requerimientos metabólicos (Rainbow, 2007). Esto explica en parte las diferencias encontradas entre las presas (krill y peces) y las heces de la ballena azul.

9.1.4 Comparación entre áreas de estudio

El Golfo de California y el Océano Antártico tienen condiciones climáticas completamente distintas. En la Antártida existe alta productividad durante los meses de verano (austral) cuando existe luz solar (que ocurre durante el invierno en el hemisferio norte) mientras que el invierno la productividad disminuye por carencia de luz. Los elementos traza en el Océano Antártico provienen principalmente del proceso de deshielo y de aerosoles atmosféricos que transportan los elementos traza. El Fe es un elemento traza limitante en esta área (Martin, 1990). Aunque en el Circulo Antártico exista una alta concentración de nitratos, la comunidad fitoplanctónica no puede seguir produciendo biomasa debido a la limitación que ejerce el Fe.

La diferencia en la concentración de nutrientes entre ambos sitios podría explicar las diferencias en concentración de elementos traza de las presas de ballena azul y por ende sus heces. Esto es congruente con los niveles de productividad

primaria y biomasa fitoplanctónica de estas regiones. La productividad primaria del Circulo Antártico se estima de 1.5 g C m^{-3} $día^{-1}$ durante el verano y 0.20 g C m^{-3} $día^{-1}$ durante el invierno austral (Arrigo *et al.,* 1998). Mientras que para el Golfo de California el rango de productividad primaria varía de 0.002–0.95 g C m^{-3} $día^{-1}$ a lo largo del año (Álvarez-Borrego & Lara-Lara, 1991). Esto permite que en el Océano Antártico se utilicen en mayor medida los elementos traza transfiriéndose a través de la trama trófica, desde los productores primarios hasta depredadores. Esta transferencia trófica facilita la bioacumulación de las concentraciones de elementos traza en los depredadores de niveles tróficos superiores detectado, en este caso, en sus heces.

Las condiciones ambientales en el Océano Antártico propician que *E. superba* tenga un ciclo de vida distinto al de *N. simplex*. Es una especie que puede llegar a medir 7 cm de longitud total y que tiene un tiempo de vida estimado de 5–8 años en los cuales utilizan estrategias que les ayudan a optimizar su metabolismo durante el invierno como encogimiento estacional, cambio de omnivoría a carnivoría y alimentación debajo de hielos (Pakhomov, 1995). En contraste, *N. simplex* es una especie que máximo llega a medir 19 mm y tiene un ciclo de vida menor de un año (Lavaniegos 1992; Gómez-Gutiérrez *et al.* 2012). Tener ciclos de vida distintos y estar en un ambiente con diferentes temperaturas (tasas de desarrollo) y concentraciones de nutrientes influyen en la cantidad de elementos traza bioacumulado en el cuerpo de los organismos (Fowler, 2002). Las ballenas azules reflejan en sus heces las distintas concentraciones de elementos traza contenidos en sus presas. Las ballenas del Océano Antártico se alimentan de eufáusidos que habitan en regiones con mayores concentracione sde nutrientes, algunos de los elementos traza tienen concentraciones hasta tres veces más altas que las observadas en el Golfo de California (Tabla 1).

9.2 Experimento *in situ*

El experimento realizado en la temporada de avistamiento de ballenas azules (marzo del 2017) en el Parque Nacional Bahía de Loreto, BCS mostró variaciones

notables en los indicadores indirectos de la producción fitoplanctónica como respuesta a la adición de nutrientes provenientes de las heces. Las muestras de agua tomadas de la Bahía de Loreto presentaron un pH de 8.2, (dentro de los valores usuales de pH en este ecosistema), y un porcentaje de saturación de oxígeno >100%, lo que es congruente con el periodo más productivo del año (invierno-primavera) en el Golfo de California (Álvarez-Borrego & Lara-Lara, 1991).

Durante el transcurso del experimento, los tratamientos mostraron tendencias de concentración distintas a la incubación control. El primer día el pH y la saturación de oxígeno exhibieron una disminución en los tres contenedores, pero la disminución fue mayor en los tratamientos debido la cantidad de heces añadidas. La disminución del pH es el resultado combinado del proceso fotosintético con la captación de NO_3^- y NH_4^+ provoca un aumento y una disminución de la alcalinidad del medio. La captación de NO_3^- equilibra la producción de OH y la captación de NH_4^+ conduce a la generación de H^+ (Brewer & Goldman, 1976). La captación de CO_2 ayuda al aumento de la alcalinidad y el seguimiento del porcentaje de saturación de oxígeno fue un indicador indirecto de la actividad fotosintética que estaba ocurriendo dentro de los contenedores de los tratamientos I y II.

Las concentraciones y proporciones de los nutrientes del presente experimento iniciaron en condiciones de dilución en el agua de mar. Por esta razón, no es posible comparar de manera directa con los valores obtenidos de NH_4^+ y PO_4^{3-} registrados en heces de diferentes especies de cetáceos como *E. australis* (Roman *et al.,* 2016). No obstante, como resultado relevante del presente estudio, se obtuvo información de otros nutrientes aportados por las heces de ballena azul y que no habían sido previamente investigados.

Una vez diluidas las heces de ballena azul, el PO_4^{3-} fue el principal componente, seguido por el NH_4^+ y la urea. Aunque el NH_4^+ compone el 93% del NID y fue evidente que fue el nutriente nitrogenado preferentemente asimilado por la comunidad fitoplanctónica a partir del quinto día del experimento; sin embargo, no

se descarta el uso de NO_2 y NO_3 por diferentes especies de fitoplancton durante el experimento.

La producción fitoplanctónica en el Golfo de California está limitada por el N (White et al., 2012). Inicialmente, durante el experimento la liberación de PO_4^{3-} es mayor que la de NH_4^+, una condición semejante a lo observado en el experimento de Roman *et al.* (2016). Los requerimientos de nutrientes nitrogenados son mayores para el crecimiento de los organismos heterótrofos que autótrofos en relación al fósforo lo cual explica por qué la excreción del fósforo no utilizado fue mayor (Ratnajarah *et al.*, 2014).

El fitoplancton aumentó los valores de los indicadores de producción (biomasa y concentración de clorofila-*a*) cuando los nutrientes nitrogenados inorgánicos y orgánicos se liberaron en el medio, en los tratamientos I (5%) y II (15%). El NH_4^+ generalmente está presente en pequeñas concentraciones, excepto en áreas contaminadas. El fitoplancton lo asimila más fácilmente debido su estado más reducido hace que sea energéticamente menos costoso de asimilar que el nitrito y nitrato (Bradley *et al.,* 2010).

Los experimentos previamente realizados demuestran que existió liberación de nutrientes (NH_4^+) a partir de las primeras horas de suspensión en agua de mar (Roman *et al.*, 2016). No obstante que en este experimento no se realizó el seguimiento de liberación de nutrientes por hora, pero al transcurrir 24 h la concentración de NH_4^+ en ambos tratamientos se duplicó. Roman *et al.* (2016) propusieron que el NH_4^+ liberado de las heces se asimilaría rápidamente en la comunidad planctónica de la zona eufótica. Sin embargo, esto no fue observado durante el experimento. Se observó un aumento de la población de fitoplancton al segundo día en los tratamientos, por la acción microbiana que actúa al momento, pero los resultados obtenidos sugieren que la utilización del este nutriente tarda unos días en convertirse en biomasa fitoplanctónica.

El N orgánico, como la urea, es una fuente viable de nutrición para el fitoplancton que compite con bacterias heterotróficas por el limitado N inorgánico (Bradley *et*

al., 2010). En general, la urea es un compuesto que no es utilizado por las bacterias, ya que asimilan y metabolizan formas de nitrógeno más fácil de asimilar (Cho *et al.,* 1996). En el experimento realizado, se pudo observar diferencias entre el control y entre ambos tratamientos. Mientras que con los demás nutrientes analizados ambos tratamientos tenían un comportamiento similar en función de tiempo, aunque con diferentes magnitudes. La urea en el tratamiento II tiene un aumento que coincide con la mayor producción de biomasa. Este aumento podría ser explicado por la liberación de urea de la concentración de heces añadida al tratamiento II de la cual en el contenedor.

El retraso entre la adición de nutrientes y la respuesta del fitoplancton ha sido previamente reportado en otros estudios (Martin & Fitzwater, 1988). En nuestro experimento el incremento en la concentración de clorofila-*a* aumentó el quinto día con adición de diferentes concentraciones de Fe. Durante los últimos días del experimento, se observó otro aumento en la producción de los tratamientos. El efecto de remineralización de los nutrientes y el confinamiento permitió que permanecieran disponibles para la comunidad fitoplanctónica en los contenedores de los tratamientos.

Los análisis de la comunidad fitoplanctónica en los experimentos de fertilización por Fe en el Océano Antártico reportan crecimiento de diatomeas (*Nitzschia spp.*) en los tratamientos mientras que la comunidad dominante en el control fue de cocolitofóridos (Martin & Fitzwater, 1988). La disminución observada de SiO_4 en los tratamientos del experimento sugiere que la captación por las diatomeas y otros microorganismos con esqueletos silíceos de este elemento podrían definir a las diatomeas como predominantes en la comunidad fitoplanctónica. Aunque no se analizó la comunidad fitoplanctónica de los contenedores, se espera que esta demuestre sucesión de grupos en los tratamientos, coincidiendo los días de mayor producción con la mayor biomasa de diatomeas (Romagnan *et al.*, 2015).

Al comparar los valores isotópicos obtenidos del $\delta^{15}N$ del presente estudio con estudios previos (Tabla 4), se observa que los valores de $\delta^{15}N$ de las heces son

menores que los registrados previamente en piel de ballena azul pero mayores que el sitio de muestreo (Parque Nacional Bahía de Loreto) y otro sitio de transición (Bahía de La Paz) para la ballena azul. En tanto que los valores para las heces que se obtuvieron anteriormente por Gendron *et al.* (2001) en 1995 varían con los obtenidos a este estudio, esto sugiere que podría ser el resultado de algún cambio de presa en la dieta de la ballena azul durante los años muestreados.

Tabla 4. Comparación de los valores isotópicos provenientes de diferentes estudios. Los valores isotópicos encontrados para las heces de ballena azul son menores que los de la piel, pero mayores que el sitio de muestreo (Parque Nacional Bahía de Loreto y Cuenca Alfonso, Bahía de La Paz).

	Tipo de muestra	$\delta^{13}C$	$\delta^{15}N$
Presente estudio	Heces	-20.99	13.14
	MOP	-23.77	10.06
Bahía de La Paz			
Aguíñiga *et al.* (2010)	MOP	-22.50	11.50
Gendron *et al.* (2001)	Heces	-18.7	11.1
	Piel	-18.2	12.9
Busquets-Vass (2008)	Heces	-17.9	13.7
	Piel	-16.8	14
Bahía de Loreto			
Busquets-Vass *et al.* (2017)	Piel	-16.90	13.60
Bahía de Fundy			
Roman *et al.* (2016)	Heces de *Eubalaena glacialis*	-	9.10

El $\delta^{15}N$ de las heces ($13^{0}/_{00}$) esta enriquecido a comparación al MOP del sitio ($10^{0}/_{00}$). Este enriquecimiento probablemente se debe a la alimentación de las ballenas a niveles tróficos más altos en relación con el fitoplancton debido a que

$\delta^{15}N$ aumenta en 3 a 4 ‰ por nivel trófico (Vander Zanden *et al.*, 1997) coincidiendo con las diferencias encontradas en estudios previos del Golfo de California (Gendron *et al.*, 2001; Busquets-Vass, 2008; Aguíñiga *et al*., 2010; Busquets-Vass *et al.*, 2017). La huella isotópica de las heces se ve reflejada en los contenedores de los tratamientos al siguiente día de la suspensión. Esto indica su utilización por la comunidad bacteriana. Los siguientes días hubo una disminución en el $\delta^{15}N$, lo cual puede indicar el uso de los nutrientes disponibles en el medio, y para el quinto día la firma isotópica aumentó de nuevo indicando que el fitoplancton está haciendo uso nuevamente de los nutrientes remineralizados provenientes de las heces de ballena azul. La firma isotópica del $\delta^{15}N$, da indicios de cómo y en qué medida fueron utilizadas las heces de ballena azul durante el experimento ayudando a entender la influencia de los nutrientes nitrogenados reciclados en el ambiente.

En general, el contenedor del control tuvo una disminución en los contenidos de nutrientes y una vez consumidos por el fitoplancton la biomasa fue disminuyendo durante el transcurso de los días del experimento. Aunque para hacer estimaciones ecológicas se requiere más conocimiento de la disponibilidad de las heces en un sistema abierto con influencia de otros factores físicos, químicos y biológicos que puedan afectar su utilización. La cantidad de nutrientes aportados por las heces de ballena azul pueden formar parte significativa de la producción primaria del Parque Nacional Bahía de Loreto, ya que contiene suficientes nutrientes que promueven la producción fitoplanctónica como ha sido demostrado en este trabajo.

10 CONCLUSIONES

Las heces de ballena azul *Balaenoptera musculus* contienen elementos trazas en similar proporción a los encontrados en el eufáusido *Nyctiphanes simplex* que es su principal presa.

La concentración de elementos traza contenidos en las heces mostraron alta variabilidad entre individuos y no presentaron una diferencia significativa entre la media de las concentraciones de heces de las hembras lactantes y del resto de los individuos (hembras y machos).

La concentración de elementos traza contenidos en las heces fueron significativamente menores durante el 2009-2010 en comparación con el periodo 2012-2016.

La concentración de elementos traza contenidos en las heces de ballenas azules en el Golfo de California fueron considerablemente menores que las concentraciones reportadas en heces de ballena azul del Océano Antártico.

Las heces de ballena azul contienen macro y micro nutrientes que promueven la producción fitoplanctónica (en al menos <10 días) del Parque Nacional Bahía de Loreto, confirmado el efecto del proceso de “Whale Pump" en una zona de crianza de ballena azul.

Las heces liberan nutrientes necesarios para la producción primaria y aumento de biomasa del fitoplancton nativo.

Una liberación inicial de los nutrientes ocurre por acción microbiana, la cual en parte proviene de la flora intestinal de la ballena azul pero la asimilación de nutrientes por el fitoplancton nativo tardó cuatro días.

Los resultados del $\delta^{15}N$ y $\delta^{13}C$ concuerdan con estimaciones previas y el $\delta^{15}N$ proporciona información de cómo es utilizado en N fecal.

11 RECOMENDACIONES

Elementos traza:

1. Utilizar otra metodología que requiera un menor tamaño de muestra para las concentraciones de los elementos traza de muestras de años previos que fueron previamente utilizadas en otros estudios (*e.g.* hormonas, isótopos).
2. Aumentar número de muestra de heces secas para hembras lactantes y machos.
3. Realizar un análisis a fondo de la relación de variables ambientales como la temperatura superficial del mar, velocidad y dirección de los vientos y su influencia y relación con las concentraciones de elementos traza en las heces.
4. Seguir colectando muestras de krill y mictófidos para hacer un análisis de la posible relación de concentraciones de elementos traza en las heces durante los años.
5. Determinar la concentración de elementos traza de eufáusidos y mictófidos en diferentes épocas de año y separando estadios de vida, sexos y condición reproductiva.
6. Realizar modelos de efecto poblacional y ecosistémico sabiendo el tamaño poblacional de la ballena azul, la tasa de defecación, la producción de heces diaria y el posible efecto que pueden tener en el Parque Nacional Bahía de Loreto.

Experimento:

1. Determinar las concentraciones de nutrientes contenidos en las heces antes de la dilución.
2. Determinar la composición y abundancia de la comunidad fitoplanctónica.
3. Medir las tasas de hundimiento, tasa de disolución, frecuencia de defecación y biomasa de las heces en la zona eufótica.

4. Estimar el aporte total de nutrientes de una defecación de una ballena azul y modelar el total que se aportaría por temporada de avistamiento en el Parque Nacional Bahía de Loreto.

12 BIBLIOGRAFÍA

Aguíñiga, S., A. Sánchez & N. Silverberg. 2010. Temporal variations of C, N, δ13C, and δ15N in organic matter collected by a sediment trap at Cuenca Alfonso, Bahía de La Paz, SW Gulf of California. *Cont. Shelf Res.,* 30: 1692–1700.

Altmann, J. 1974. Observational study of behavior, sampling methods. *Behaviour,* 49(3, 4):227–265

Álvarez-Borrego, S. & J.S. Lara-Lara. 1991. The physical environment and primary productivity of the Gulf of California. *The Gulf and Peninsular Province of the Californias*. *AAPG Bull.,* 1(26): 555–567.

Arrigo, K.R., D. Worthen, A. Schell & M.P. Lizotte.1998. Primary production in Southern Ocean waters. *J. Geophys. Res.,* 103(C8): 15,587–15,600.

Bailey, H., B.R. Mate, D.M. Palacios, L. Irvine, S.J. Bograd & D.P. Costa. 2009. Behavioural estimation of blue whale movements in the northeast Pacific from state-space model analysis of satellite tracks. *Endanger Species Res.,* 10: 93–106.

Barlow, J. 1994. The abundance of large whales in California coastal waters: a comparison of ship surveys in 1979/80 and 1991. *Rep. Intern. Whal. Comm.,* 44: 399–406.

Barlow, J., M. Kahru & B.G. Mitchell. 2008. Cetacean biomass, prey consumption, and primary production requirements in the California Current ecosystem. *Mar. Eco. Prog. Ser.,* 371:285–295.

Baskin, Y. 1993. Blue whale population may be increasing off California*. Science,* 260: 287.

Bendschneider, K. & R.J. Robinson. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in seawater. *J. Mar. Res.,* 11: 87–96.

Bradley, P.B., M.P. Sanderson, M.E. Frischer, J. Brofft, M.G. Booth, L.J. Kerkhof & D.A. Bronk. 2010. Inorganic and organic nitrogen uptake by phytoplankton and heterotrophic bacteria in the stratified Mid-Atlantic Bight. *Estuar. Coast. Shelf Sci.,* 88: 429–441.

Brewer, P.G. & J.C. Goldman. 1976. Alkalinity changes generated by phytoplankton growth. *Limnol. Oceanogr.,* 21(1): 108–117.

Buncker, V.W., L.J. Hinks, M.S. Lawson & B.E. Clayton. 1984. Assessment of zinc and copper status of elderly people using metabolic balance studies and measurements of leucocyte concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.,* 40: 1096–1102.

Busquets-Vass, G. 2008. Variabilidad de isótopos estales de nitrógeno y carbono en piel de ballena azul (*Balaenoptera musculus*). Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional. La Paz, BCS.

Busquets-Vass, G., S.D. Newsome, J. Calambokidis, G. Serra-Valente, J.K. Jacobsen, S. Aguíñiga & D. Gendron. 2017. Estimating blue whale isotopic incorporation rates and baleen growth rates: Implications for assessing diet and movement patterns in mysticetes. *PloS One,* 12(5): e0177880

Calambokidis, J., G.H. Steiger, J.C. Cubbage, K.C. Balcomb, C. Ewald, S. Krause, R. Wells & R. Sears. 1990. Sightings and movements of blue whales off central California 1986-88 from photoidentification individuals. *Rep. Intern. Whal. Comm.,* 12: 343–348.

Calambokidis, J. & J. Barlow. 2004**.** Abundance of blue and humpback whales in the Eastern North Pacific estimated by capture-recapture and line-transect methods. *Mar. Mammal Sci.,* 20: 63–85.

Casillas-López, C. 2016. Condición corporal de la ballena azul (*Balaenoptera musculus*) con base a un índice visual a partir de fotografías. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jal.

Cho, B.C., M.G. Park, J.H. Shim & F. Azam. 1996. Significance of bacteria in urea dynamics in coastal surface waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* 142: 19–26.

Costa-Urrutia, P., S. Sanvito, N. Victoria-Cota, L. Enríquez-Paredes & D. Gendron. 2013. Fine-scale population structure of blue whale wintering aggregations in the Gulf of California. *PloS One,* 8(3): e58315.

Cullen, J.J. 1991. Hypotheses to explain high-nutrient conditions in the open sea. *Limnol. Oceanogr.,* 36(8): 1578–1599.

Cullen, J.J. 1995. Status of the iron hypothesis after the Open-Ocean Enrichment Experiment. *Limnol. Oceanogr.,* 40(7): 1336–1343.

Del Ángel-Rodríguez, J.A. 1997. Hábitos alimentarios y distribución espacio-temporal de los rorcuales común (*Balaenoptera physalus*) y azul (*Balaenoptera musculus*) en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas- Instituto Politécnico Nacional. La Paz, BCS, México.

DeNiro, M.J. & S. Epstein. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta.,* 42: 495–506.

Doughty, C.E., J. Roman, S. Faurby, A. Wolf, A. Hque, E.S. Bakker, Y. Malhi, J.B. Dunning Jr. & J.C. Svenning. 2015. Global nutrient transport in a world of giants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,* 1–6.

Enríquez-Paredes, L. M. 2005. Identidad genética de la población de ballena azul (*Balaenoptera musculus*) en el Pacífico Nororiental: agregaciones mexicanas. Tesis de Doctorado. UABC. Ensenada, Baja California, México. 198.

Eppley, R.W. & B.J. Peterson. 1979. Particulate organic matter flux and planktonic new production in the deep ocean. *Nature,* 289: 667–680.

Fernandez, T.J., K. Pradeep, R. Anandan, A.A. Zynudheen & T.V. Sankar. 2014. Comparison of nutritional characteristics of myctophid fishes (*Diaphus effulgens* and *D. hudsoni*) with common Indian food fishes. *Fish. Technol.* 51: 173–178.

Ferris, J.P. & D.A. Usher. 1983. Origins of Life. *Biochemistry-US,* 1191–1241.

Flores Cascante, L. & D. Gendron. 2012. Application of McMaster's technique in live blue whales. *Vet. rec.,* 171:220.

Fowler, S.W. 2002. Role of plankton in controlling fluxes and residence times of metals and radionuclides in the sea. *Ancona*, 27 – 30.

Frieden, E. 1985. New Perspectives on the Essential Trace Elements. *J. Chem. Edu.,* 62 (11): 917 – 923.

García-Morales, R., J. López-Martínez, J.E. Valdez-Holguin, H. Herrera-Cervantes & L.D. Espinosa-Chaurand. 2017. Environmental variability and oceanographic dynamics of the central and southern coastal zone of Sonora in the Gulf of California. *Remote Sens.,* 9 (925): 1 – 27.

Gendron, D. 2002. Ecología poblacional de la ballena azul, *Balaenoptera musculus*, de la Península de Baja California. Tesis de doctorado en Ecología Marina. CICESE. Ensenada, B.C.

Gendron, D., S. Aguíñiga & J.D. Carriquiry. 2001. δ15N and δ13C in skin biopsy samples: a note on their applicability for examining the relative trophic level in three rorqual species. *J. Cetac. Res. Manage.,* 3(1): 41 – 44.

Gómez-Gutierrez, J., S. Martínez-Gómez & C.J. Robinson. 2012. Seasonal growth, molt, and egg production rates of *Nyctiphanes simplex* (Crustacea:

Euphausiacea) juveniles and adults in the Gulf of California. *Mar. Ecol. Prog. Ser.,* 455: 173 – 194.

Grasshoff, K.1964. On the determination of silica in sea water. *Deep Sea Res.,* 11: 597 – 604.

Grasshoff*,* K., M. Ehrhardt. & K. Kremling. 1983*.* Methods of Seawater Analysis. *Verlag Chemie Weinheim*. Nueva York.

Guérin, T., R. Chekri, C. Vastel, V. Sirot, J-L. Volatier, J-C. Leblanc & L. Noël. 2011. Determination of 20 trace elements in fish and other seafood from the French market. *Food Chem.,* 127:934 – 942.

Hart, T.J. 1942 Phytoplankton periodicity in Antarctic surface waters. *Discov. Rep.,* 21: 261 – 356.

Jeffrey, S.W. & G.F. Humprey. 1975. New spectrophotometric equations for the determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem Physiol. Pflanzen,* 167:191 – 194.

Jiménez-Pinedo, N.C. 2010. Hábitos alimentarios y relación interespecífica entre la ballena azul (*Balaenoptera musculus*) y la ballena de aleta (*B. physalus*) en el suroeste del Golfo de California. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas- Instituto Politécnico Nacional. La Paz, BCS, México.

Lavaniegos, B.E. 1992. Growth and Larval Development of *Nyctiphanes simplex* in laboratory conditions. *Cal. Coop. Ocean. Fish.,* 33: 162 – 171.

Lavery, T.J. & B. Roudnew. 2014. Whales sustain fisheries: Blue whales stimulate primary production in the Southern Ocean. *Mar. Mammal Sci.,* 30(3): 888-904.

Lewika, I., R. Kocylowski, M. Grzesiak, Z. Gaj, P. Oszukowski & J. Suliburska. 2017. Selected Trace Elements Concentrations in Pregnancy and their possible role – literature review. *Via Medica,* 88 (9): 509 – 514.

Marsden, I.D. & P.S Rainbow. 2004. Does the accumulation of trace metals in crustaceans affect their ecology – the amphipod example? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.,* 300: 373 – 408.

Martin, J.H. 1990. Glacial-Interglacial CO2 change: The iron hypotheses. *Paleoceanography,* 5(1): 1 – 13.

Martin, J.H. & S.E. Fitzwater. 1988. Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east Pacific subarctic. *Nature,* 33: 341 – 343.

Mertz W. & W.E. Cornatzer. 1971. Newer Trace Elements in Nutrition. Verlag Marcel Dekker, Nueva York.

Moore, C.M., M.M. Mills, K.R. Arrigo, I. Berman-Frank, L. Bopp, P.W. Boyd, E.D. Galbraith, R.J. Geider, C. Guieu, S.L. Jaccard, T.D. Jickells, J. La Roche, T.M. Lenton, N.M. Mahowald, E. Marañón, I. Marinov, J.K. Moore, T. Nakatsuka, A. Oschlies, M.A. Saito, T.F. Thingstad, A. Tsuda & O. Ulloa. 2013. Processes and patterns of oceanic nutrient limitation. *Nature Geosci.,* 1-10

Morris, A.W. & J.P. Riley. 1963. The determination of Nitrate in sea water. *Anal. Chim. Acta,* 29: 272 – 279.

Murphy, J. & J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphates in natural waters. *Anal. Chim. Acta,* 27: 31 – 36.

Nicol S., A. Bowie, S. Jarman, D. Lannuzel, K.M. Meiners & P. van der Merwe. 2010. Southern Ocean iron fertilization by baleen whales and Antarctic krill. *Fish Fish.,* 11(2): 203 – 209.

Ohta, K., T. Watarai, T. Oishi, Y. Ueshiba, S. Hirose, T. Yoshizawa, Y. Akikusa, M. Sato & H. Okano. 1953. Composition of fin whale milk. *Proc. Jpn. Acad.*, 29: 392 – 398.

Pakhomov, E.A. 1995. Demographic studies of Antarctic krill *Euphausia superba* in the Cooperation and Cosmonaut Seas (Indian sector of the Southern Ocean). *Mar. Eco. Prog. Ser.,* 119: 45 – 61.

Rainbow, P.S. 2007. Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. *Environ. Int.,* 33: 576 – 582.

Raknuzzaman, M., M.K. Ahmed, M.S. Islam, M. Habibullah-Al-Mamun, M. Tokumura, M. Sekine & S. Masunaga. 2016. Trace metal contamination in commercial fish and crustaceans collected in Bangladesh and health risk assessment. *Environ. Sci. Pollut. Res.,* 23: 17298 – 17310.

Ratnarajah L., A.R. Bowie, D. Lannuzel, K.M. Meiners & S. Nicol. 2014. The biogeochemical role of baleen whales and krill in Southern Ocean nutrient cycling. *PLoS One,* 9(12):e114067.

Ratnarajah L., J. Melbourne-Thomas, M.P. Marzloff, D. Lannuzel, K.M. Meiners, F. Chever, S. Nicol & A.R. Bowie. 2016. A preliminary model of iron fertilization by baleen whales and Antarctic krill in the Southern Ocean: Sensitivity of primary productivity estimates to parameter uncertainty. *Ecol. Model.,* 320: 203 – 212.

Redfield, A.C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *Am. Sci.,* 46 (3): 230A, 205 – 221.

Romagnan, J.B., L. Legendre, L. Guidi, J.L. Jamet, D. Jamet, L. Mousseau, M.L. Pedrotti, M. Picheral, G. Gorsky, C. Sardet & L. Stemmann. 2015. Comprehensive Model of Annual Plankton Succession Based on the Whole-Plankton Time Series Approach. *PLoS One,* 10(3): e0119219.

Roman J. & J.J. McCarthy. 2010. The whale pump: Marine mammals enhance primary productivity in a coastal basin. *PLoS One,* 5(10):e13255.

Roman J., J.A. Estes, L. Morissette, C. Smith, D. Costa, J. McCarthy, J.B. Nation, S. Nicol, A. Pershing & V. Smetacek. 2014. Whales as marine ecosystem engineers. *Bull Ecol. Soc. Am.,* 7(12): 377 – 385.

Roman J., J. Nevins, M. Altabet, H. Koopman & J.J. McCarthy. 2016. Endangered right whales enhance primary productivity in the Bay of Fundy. *PLoS One,* 11(6): e0156553.

Roméo, M., M. Gnassia-Barelli & C. Carré. 1992. Importance of gelatinous plankton organisms in storage and transfer of trace metals in the northwestern Mediterranean. *Mar. Eco. Prog. Ser.,* 82: 267 – 274.

Sears, R. & J. Calambokidis. 2002. Update COSEWIC status report on the blue whales *Balaenoptera musculus* in Canada. En: COSEWIC assessment and update status report on the blue whales *Balaenoptera musculus* in Canada. *Committee on the status of endangered wildlife in Canada* 1 – 32. Ottawa, Canadá.

Segovia-Zavala, J.A., F. Delgadillo-Hinojosa, M.L. Lares-Reyes, M.A. Huerta-Díaz, A. Muñoz-Barbosa & E.V. Torres-Delgado. 2009. Atmospheric input and concentration of disolved iron in the surface layer of the Gulf of California. *Cienc. Mar.*, 35(1): 75 – 90.

Shen, P-J., B. Gong, F.-Y. Xu & Y. Luo. 2015. Four trace elements in pregnant women and their relationships with adverse pregnancy outcomes. *Eur. Rev. Med. Pharmaco.,* 19 (24): 4690 – 4697.

Shinn, N.B., 1941. A colorimetric method for the determination of Nitrite. *Ind. Eng. Chem.,* 13: 33 – 35.

Smetacek, V. 2008. Are declining Antarctic krill stocks a result of global warming or the decimation of the whales? En: *The Impact of Global Warming on Polar Ecosystems* (ed. C. Duarte). Fundación BBVA, España, 46 – 83.

Solórzano, L., 1969. Determination of ammonia in natural waters by phenol hypochlorite method. *Limnol Oceanogr.,* 14: 799 – 801.

Strickland, J.D., & T.R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. 2da Ed. 167, *J. Fish. Res. Board. Can.*, Ottawa, Canadá.

Soto-Jiménez, M.F. 2011. Transferencia de elementos traza en tramas tróficas acuáticas. *Hidrobiológica*, 21(3): 239-248.

Sunda, W.G. 2012. Feedback interactions between trace metal nutrients and phytoplankton in the ocean. *Front. Microbiol.,* 3: 204.

Tovar-Sánchez, A., C.M. Duarte, S. Hernández-León & S.A. Sañudo-Wilhelmy. 2007. Krill as a central node for iron cycling in the Southern Ocean. *Geophys. Res. Lett.,* 34: 1 – 4.

Underwood, E. 1977. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. Academic Press, Nueva York.

Valenzuela-Molina, M., S. Atkinson, K. Mashburn, D. Gendron & R.J. Bronwell Jr. 2018. Fecal steroid hormones reveal reproductive state in female blue whales sampled in the Gulf of California, México. *Gen. Comp. Endocr.,* 261: 127 – 135.

Valderrama, J.C., 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Mar. Chem.,* 10: 109 – 122.

Vander Zanden M.J., G. Cabana & J.B. Rasmussen.1997. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios (δ15N) and literature dietary data. *C. J. Fish. Aquat. Sci.,* 54:1142 – 1158.

Wetzel, R.G. & G. Likens. 2000. Limnological analyses. Springer Science and Bussiness Media, Nueva York.

White, A.E., R.A. Foster, C.R. Benitez-Nelson, P. Masqué, E. Verdeny, B.N. Popp, K.E. Arthur & F.G. Prahl. 2012. Nitrogen fixation in the Gulf of California and the eastern Tropical North Pacific. *Prog. Oceanogr.,* 109: 1 – 17.

Williams R.J.P. & J.J.R.F. DaSilva. 1978. New Trends in Bio-inorganic Chemistry. Academic Press, Nueva York.

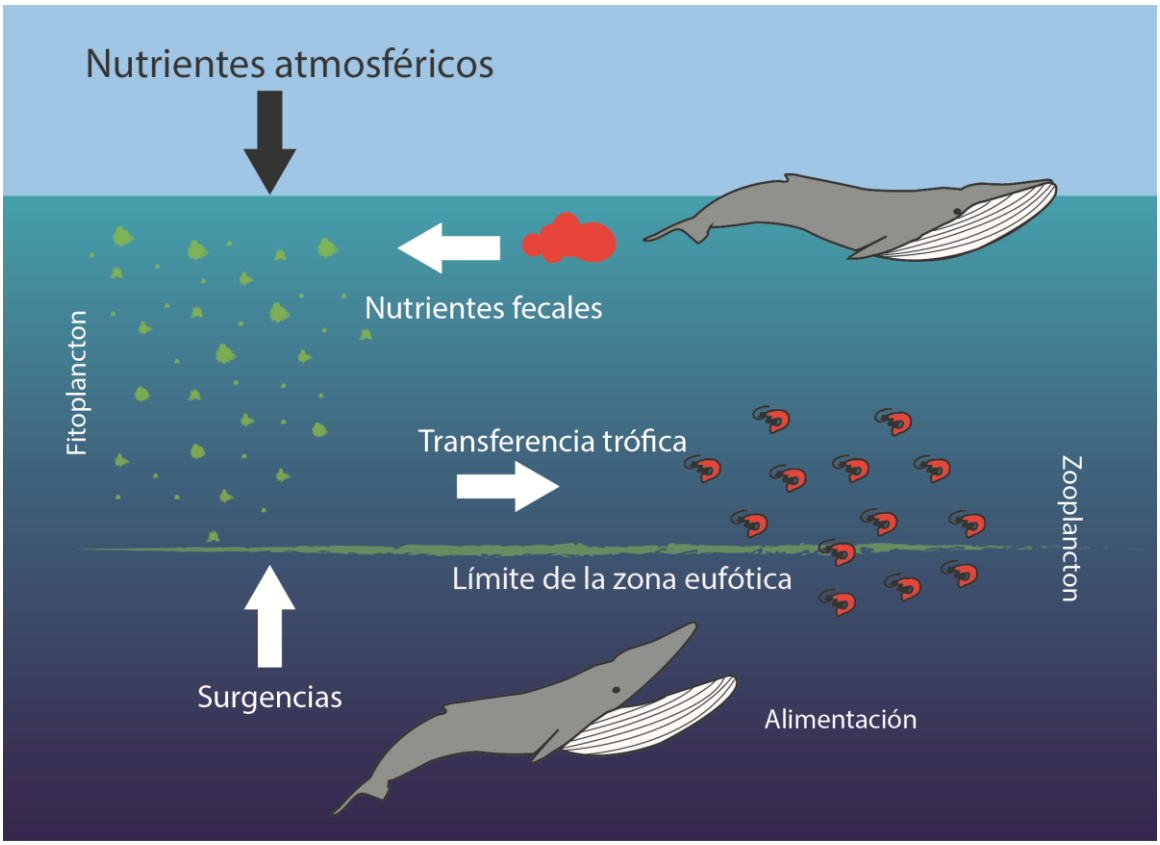
Wing, S.R., L. Jack, O. Shatova, J.J. Leichter, D. Barr, R.D. Frew & M. Gault-Ringold. 2014. Seabirds and marine mammals redistribute bioavailable iron in the Southern Ocean. *Mar. Eco. Prog. Ser.,*510: 1 – 13.

Yochem, P.K. & S. Leatherwood. 1985. Blue whale *Balaenoptera musculus* (Linnaeus, 1758). 193-240. En: Ridway, S. H. y R. Harrison (eds.). *Handbook of Marine Mammals*. Volume 3: The Sirenians and Baleen Whales. Academic Press, Londres. 362.

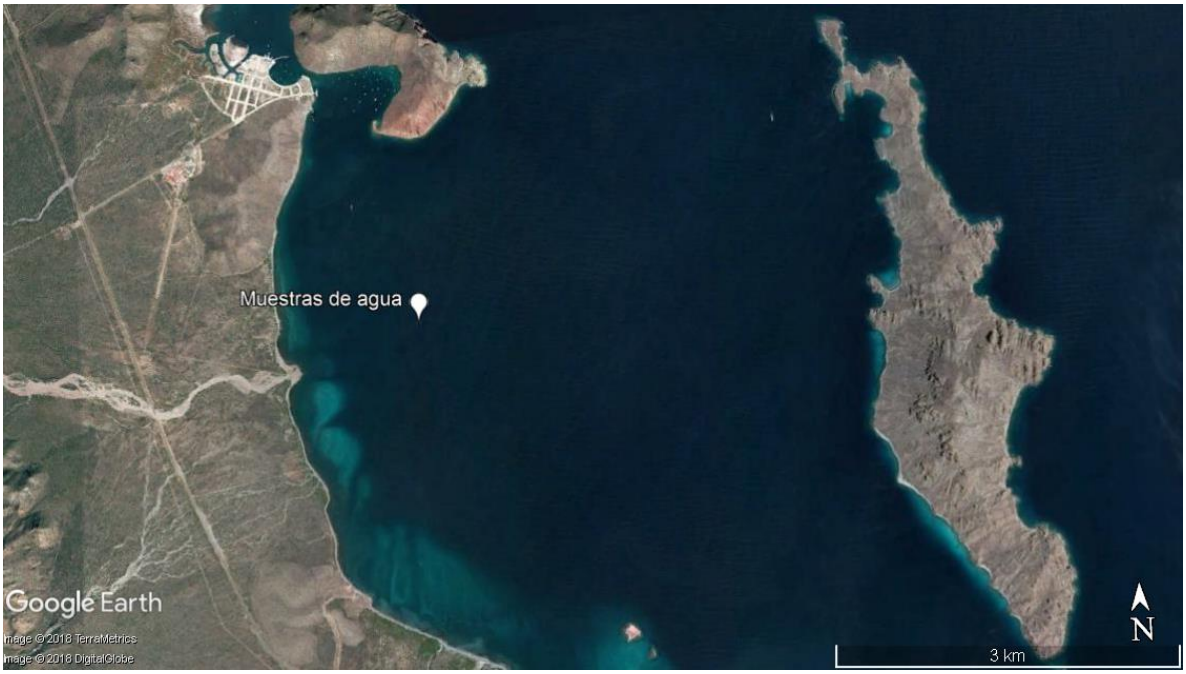
Zeitzschel, B. 1969. Primary productivity in the Gulf of California. *Mar. Biol.,* 3: 201.

Zeitzschel, B. 1970. The quantity, composition and distribution of suspended particulate matter in the Gulf of California. *Mar. Biol.,* 7: 305 – 318.

13 ANEXOS



Anexo 1. Diagrama modificado del modelo "Whale pump" propuesto por Roman & McCarthy (2010).



Anexo 2. Mapa mostrando la localidad de la recolección de agua utilizada para el experimento de enriquecimiento por heces de ballena azul (25°47'33.10"N y 111°17'55.70"O). Se procuró que no existiera influencia de ballenas en esta zona durante una semana antes del experimento.

Anexo 3. Tabla del total de muestras analizadas para las concentraciones de elementos traza. Algunas de las muestras más antiguas no fueron encontradas en la base de datos y se desconocia a que individuo de ballena azul pertenecían.

N. de muestra	ID	Sexo	Categoría de Ballena	Año
1	Desconocido	Desconocido	Desconocido	2002
2	303	Hembra	Hembra lactante	2009
3	65	Hembra	Hembra adulta	2009
4	59	Hembra	Hembra adulta	2009
5	250	Hembra	Hembra adulta	2009
6	395	Hembra	Hembra adulta	2009
7	160	Hembra	Hembra adulta	2009
8	334	Hembra	Hembra adulta	2009
9	124	Hembra	Hembra adulta	2009
10	41	Hembra	Hembra lactante	2010
11	12	Macho	Macho Adulto	2010
12	266	Hembra	Hembra adulta	2010
13	116	Hembra	Hembra lactante	2010
14	124	Hembra	Hembra adulta	2010
15	713	Hembra	Hembra adulta	2010
16	Desconocido	Desconocido	Desconocido	2011
17	106	Hembra	Hembra adulta	2011
18	667	Hembra	Hembra lactante	2011
19	41	Hembra	Hembra adulta	2011
20	75	Hembra	Hembra lactante	2011
21	134	Hembra	Hembra adulta	2011
22	761	Hembra	Hembra lactante	2012
23	825	Desconocido	Desconocido	2012
24	49	Hembra	Hembra adulta	2012
25	836	Desconocido	Desconocido	2012
26	106	Hembra	Hembra adulta	2012
27	Desconocido	Desconocido	Desconocido	2013
28	536	Hembra	Hembra adulta	2013
29	203	Macho	Macho Adulto	2013
30	667	Hembra	Hembra adulta	2013
31	75	Hembra	Hembra adulta	2014
32	12	Macho	Macho Adulto	2014
33	298	Hembra	Hembra adulta	2014
34	667	Hembra	Hembra adulta	2014
35	477	Hembra	Hembra lactante	2015
36	Desconocido	Desconocido	Desconocido	2015
37	329	Hembra	Hembra adulta	2016

38	540	Hembra	Hembra adulta	2016
39	144	Macho	Macho Adulto	2016
40	325	Hembra	Hembra adulta	2016
41	12	Macho	Macho Adulto	2016