



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**VARIABILIDAD DE ISÓTOPOS ESTABLES
DE NITRÓGENO Y CARBONO EN PIEL DE
BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

EN

MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

GERALDINE ROSALIE BUSQUETS VASS

LA PAZ, B.C.S., MARZO DE 2008



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 10:00 horas del día 14 del mes de Diciembre del 2007 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

"VARIABILIDAD DE ISÓTOPOS ESTABLES DE NITRÓGENO Y CARBONO
EN PIEL DE BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*)"

Presentada por el alumno:

BUSQUETS
Apellido paterno

VASS
materno

GERALDINE ROSALIE
nombre(s)

Con registro:

B	0	5	1	1	9	3
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA

Director de tesis
PRIMER VOCAL

DR. SERGIO AGUÍÑIGA GARCÍA

PRESIDENTE

DRA. SILVIE DUMAS

SECRETARIO

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ

SEGUNDO VOCAL

DRA. DIANE GENDRON LANIEL
2º. DIRECTOR

TERCER VOCAL

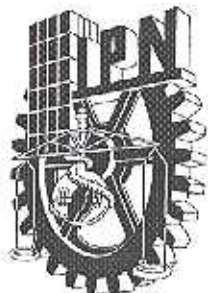
MC. GUSTAVO DE LA CRUZ AGÜERO

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE



I. P. N.
CICIMAR
DIRECCIÓN



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 19 del mes Noviembre del año 2007, el (la) que suscribe GERALDINE ROSALIE BUSQUETS VASS alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro B051193 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DR. SERGIO AGUÍNIGA GARCÍA y DRA. DIANE GENDRON LANIEL y cede los derechos del trabajo titulado: "VARIABILIDAD DE ISÓTOPOS ESTABLES DE NITRÓGENO Y CARBONO EN PIEL DE BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*)" al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

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

GERALDINE ROSALIE BUSQUETS VASS

nombre y firma

DEDICATORIA

Este trabajo es el resultado de muchos años de estudios en los cuales ustedes nunca me dejaron de amar, alentar e inclusive ser mis consejeros sentimentales en todo momento y a toda hora. No se que hubiera hechos sin ustedes, las voces en el teléfono que nunca me dejaron renunciar a mis sueños y me empujaron a seguir mi camino. Los amo, el mejor regalo que me pudo dar la vida son ustedes, todo lo demás es extra...

A ti Salvador Busquets, mi inseparable Piap y sobre todo mi mejor amigo...en muchos momentos de mi vida me sorprendiste papá, nunca pensé que fueras una persona tan comprensiva, me has enseñado tantas cosas, que no me puedo imaginar quien seria hoy si tú no hubieras estado en mi vida...

A ti Chally, mi miam, por brindarme tanto amor y enseñarme a ser un poco más precisa y firme con mis sentimientos, nunca te cansaste de escucharme...

A ti Valerie, hermanita valpall!, mi media naranja y mi mejor amiga, siempre voy a admirar tu manera de manejar tu vida y ser tan tenaz en tus decisiones...

A mi abuelita, a quien amo y adoro, que me vio crecer y siempre me ha amado tanto...

A mi hermano, Dante, por convertirte poco a poco en alguien tan especial en mi vida, cada día que pasa me siento más cerca de ti...

A Milena y a Christian, porque que ya son parte de mi familia y me enseñaron el significado de la amistad y en todo momento me recibieron con los brazos abiertos...

A ti mi amor....por llegar en el momento menos esperado de mi vida, llenarla de emociones, enseñarme cosas increíbles, dedicar tanto tiempo a ayudarme en mi trabajo y compartir tantos momentos.....te amo profundamente Mario.

A Tsunami y Benito, porque a pesar de no hablan siempre me han acompañado en este viaje y nunca dudaron en darme su cariño y amor incondicional...

Y por supuesto al mar y a los navegantes del mar, las ballenas azules, porque nunca podré describir lo que siento cada vez que estoy cerca de ellos...

Por ustedes hoy soy lo que soy y los quiero, amo, admiro y respeto con todo mi corazón.....por eso les dedico este trabajo que es un logro personal en mi vida y un escalón hacia la siguiente aventura...

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN), por permitirme participar en el programa de maestría de la institución y al Centro de Investigaciones del Noroeste (CIB), por facilitarme sus instalaciones para realizar parte del trabajo de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI), Beca Institucional de Posgrado del Instituto Politécnico Nacional y al American Cetacean Society de Monterey Bay por todo el apoyo económico que se me brindo, sin el cual no hubiera podido realizar esta tesis.

Dra. Diane no se como agradecerle haberme dado esta oportunidad, haber compartido tantas experiencias increíbles y sobre todo tenerme tanta paciencia y dedicación. Todos estos años han sido los mejores de mi carrera como profesionista y eso es gracias a que usted estuvo ahí para enseñarme. Le estoy agradecida de por vida por mostrarme el camino de la investigación y por presionarme a seguir adelante, usted es una excelente investigadora y una persona admirable. Muchas gracias.

Dr. Sergio, muchas gracias por sus consejos y por introducirme al mundo de los "isótopos estables", es definitivamente muy interesante y lleno de resultados inesperados. Usted confió en mí y siempre estuvo ahí en los momentos difíciles.

A mi comité revisor: Dra. Sylvie Dumas, por los comentarios acertados en los detalles de mi tesis; al Maestro en Ciencia Gustavo de la Cruz Agüero a quien yo considero definitivamente un Doctor y a quien admiro completamente como biólogo y como persona, le estoy completamente agradecida por aceptar formar parte de mi comité y por nunca dudar en ayudarme cuando invadía su oficina y lo llenaba de preguntas; y por su supuesto al Dr. Jaime Gómez, por sus excelentes consejos, ayudarme con todos esos artículos y tesis que me mando para complementar este trabajo y sobre todo por revisar mi tesis con minucioso detalle. Muchas gracias a todos, fueron eslabones vitales para mejorar y terminar este trabajo.

Quiero agradecerle a todos mis compañeros del Laboratorio de Ecología de Mamíferos Marinos, en especial a Fabiola, Raúl, Azucena y Natalia porque siempre que los necesite estuvieron ahí para darme una mano y me enseñaron tantas cosas, pero sobre todo a trabajar en equipo y a ser amigos. Los aprecio muchísimo, todas las aventuras que vivimos juntos se quedan conmigo nunca las voy a olvidar.

A los capitanes de la CICIMAR XV, San Ciro y Javier, quienes siempre hicieron más amenas las salidas. A Manuel Zamarrón, que me brindo su amistad y me enseñó el verdadero significado "observar" en el mar.

A todo el personal de CICIMAR que me ayudo en los trámites importantes de esta tesis: en especial Humberto Ceseña y a María Magdalena Mendoza Tlapa.

A Swanny, por mostrarme lo increíble que es su mundo y compartir conmigo su pasión por los cetáceos y la vida.

Y finalmente a todos mis amigos y familiares que me han enseñado a vivir la vida con más libertad y fuerza: Yadira Trejo Hernández, Jose Páblo Medina, Louisa Renero, Marion Cruz y a toda la familia Vass.

Muchas gracias...

ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
GLOSARIO.....	VIII
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT.....	XII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	5
3. JUSTIFICACIÓN.....	10
4. OBJETIVOS.....	11
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
5.1. Área de estudio.....	12
5.1.1. Golfo de California.....	12
5.1.2. Costa occidental de Baja California.....	17
5.2. Trabajo de campo.....	18
5.2.1. Colecta de datos y muestras.....	18
5.3. Trabajo de Laboratorio.....	20
5.3.1. Foto-Identificación.....	20
5.3.2. Selección de muestras de piel y de eufáusidos.....	21
5.3.3. Descripción histológica de la piel de ballena azul.....	21
5.3.4. Separación de la piel de biopsias en capas epidérmicas.....	22
5.3.5. Análisis de isótopos estables de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$).....	23
5.4. Análisis de los datos.....	25

5.4.1. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul por preservación en dimetil sulfóxido <i>versus</i> congelado (control).....	25
5.4.2. Variabilidad entre el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las capas epidérmicas de la piel de ballena azul.....	25
5.4.3. Variabilidad individual (en la piel de un mismo animal) en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul.....	26
5.4.4. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul entre sexos y clases de edad.....	27
5.4.5. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul entre diferentes regiones y zonas del Golfo de California.....	28
5.4.6. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul a lo largo de los meses.....	28
5.4.7. Variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el eufáusido <i>N. simplex</i> dentro del Golfo de California.....	29
5.4.8. Variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en heces fecales de ballena azul.....	29
6. RESULTADOS.....	30
6.1. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul por preservación en dimetil sulfóxido <i>versus</i> congelado (control).....	31
6.2. Histología de la piel y grasa obtenida de biopsias.....	32
6.3. Variabilidad de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre las distintas capas epidérmicas de la piel de ballena azul.....	36
6.4. Variabilidad individual (en la piel de un mismo animal) en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de a piel de ballena azul	38
6.5. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel entre sexos y clases de edad.....	41
6.6. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel entre diferentes regiones y zonas del Golfo de California.....	43
6.7. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul a lo largo de los meses.....	44
6.8. Variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el eufáusido <i>N. simplex</i> y en las heces fecales de ballena azul dentro del Golfo de California.....	46

7. ANÁLISIS.....	47
7.1. La piel de ballena azul como tejido.....	47
7.2. Variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ en la piel de ballena azul.....	49
7.3. Variabilidad en el $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de ballena azul.....	55
7.4. Variabilidad en $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballenas azules a nivel individual.....	58
7.5. Relación trófica entre el MOP, los eufáusidos, la piel y heces fecales de ballenas en el Noroeste de México.....	59
8. CONCLUSIONES.....	62
9. RECOMENDACIONES.....	64
10. BIBLIOGRAFÍA.....	65
11. ANEXOS.....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Área de estudio. Golfo de California (regiones norte: NGC y sur: SGC) y la costa occidental de Baja California.....16
- Figura 2.** Muestras de piel descamada en la red (a) y biopsias de piel y grasa adquirida mediante una ballesta (b).....19
- Figura 3.** Cortes transversales de la piel y grasa obtenida de biopsias.....23
- Figura 4.** Sitios de muestreo de piel descamada y obtenida de biopsias (o) de ballena azul en el Golfo de California (región norte NGC; región sur SGC) y en la costa occidental de Baja California.....30
- Figura 5.** Sitios de muestreo de eufáusidos (▲) de la especie *N. simplex* y heces fecales (●) a lo largo del Golfo de California (región norte NGC; región sur SGC).....31
- Figura 6.** Variabilidad total y frecuencia de los valores isotópicos detectados en muestras de piel de ballenas azules (a. $\delta^{15}\text{N}$ y b. $\delta^{13}\text{C}$), en heces fecales y en eufáusidos de la especie *N. simplex* (c. $\delta^{15}\text{N}$ y d. $\delta^{13}\text{C}$).....32
- Figura 7.** Corte histológico transversal de una biopsia de ballena azul en donde se observan las capas que conforman la piel (capa dérmica y epidérmica) y la grasa o tejido subcutáneo (capa hipodérmica).....34
- Figura 8.** Cortes histológicos de grasa y piel obtenida de biopsias; a. corte transversal de la capa hipodérmica (grasa), b. corte horizontal de las papilas dérmicas, c. corte transversal de la capa epidérmica germinativa, d. corte transversal de la capa epidérmica externa, e. y f. corte transversal de la capa epidérmica intermedia (CH-capla hipodérmica, PD- papila dérmica, DR-capla dérmica reticular, CEG-capla epidérmica germinativa, CEI-capla epidérmica intermedia, CEE-capla epidérmica externa).....35
- Figura 9.** División de la capa epidérmica en sus tres capas: a. corte histológico transversal en el que se muestra donde se realizaron los cortes con bisturí. b. corte

transversal, de piel y grasa de biopsia, en fresco mostrando la separación de piel en tres capas (CH- capa hipodérmica, PD- papila dérmica, CDR- capa dérmica reticular, CEE- capa epidérmica externa, CEI- capa epidérmica intermedia, CEG- capa epidérmica germinativa, - - - - - cortes con bisturí).....36

Figura 10. Valores de **a.** $\delta^{15}\text{N}$ (promedio \pm error estándar) y **b.** $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm error estándar) medidos en las diferentes capas epidérmicas de la piel ballena azul.....37

Figura 11. Frecuencia de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ detectados en las distintas capas epidérmicas **a.** piel descamada, **b.** capa externa, **c.** intermedia y **d.** externa, de ballena azul.....39

Figura 12. Frecuencias de valores en unidades de desviación estándar de las capas epidérmicas de diferentes individuos de ballena azul.....40

Figura 13. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en piel de ballenas azules hembras y machos.....42

Figura 14. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en piel de ballenas azules: **a.** por clases de edad y **b.** entre crías y hembras lactantes.....43

Figura 15. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en piel de ballenas azules entre las regiones norte y sur del Golfo de California.....44

Figura 16. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en piel de ballenas azules a lo largo de los meses dentro del Golfo de California y la costa occidental de Baja California.....45

Figura 17. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en *N. simplex* colectados en la región sur y norte del Golfo de California.....46

Figura 18. Relación trófica con el $\delta^{15}\text{N}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) entre los eufáusidos y las ballenas azules del Golfo de California y de la costa occidental de Baja California (B.C.), tomando el valor base del MOP del Golfo de California y costas de California (Altabet *et al.*, 1999; Voss *et al.*, 2001; Miller, 2006) y los eufáusidos de la costa de California (Sydeman *et al.*, 1997; Miller, 2006).....51

Figura 19. Relación trófica de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) entre los eufáusidos (*N. simplex*, este estudio) del Golfo de California, los eufáusidos de las costas de California (Sydeman *et al.*, 1997; Miller, 2006) y las ballenas azules del Golfo de California y la costa occidental de Baja California (B.C.).....61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Ejemplo de cómo se evaluó la variabilidad individual del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre las capas epidérmicas de cada individuo: Número de identificación de cada ballena en el catalogo de fotos de CICIMAR, valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ para cada una de las capas epidérmicas del individuo, medias y sus desviaciones estándar respectivas.....	27
Tabla II. Diferencias entre: A. el $\delta^{15}\text{N}$ y B. el $\delta^{13}\text{C}$, de las capas epidérmicas, mediante la Prueba de diferencias significativas de Tukey.....	38
Tabla III. Ballenas azules foto-recapturadas dentro de una temporada: Número de identificación de cada ballena en el catalogo de fotos de CICIMAR, sexo, clase de edad, fechas de colecta de la piel, número de días transcurridos entre cada muestreo, $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ y diferencias entre muestras de piel colectadas.....	41
Tabla IV. Diferencias entre el $\delta^{15}\text{N}$ de la piel colectada a lo largo de los diferentes meses (enero-octubre), mediante la Prueba de diferencias significativas de Tukey.....	45
Tabla V. Resumen de resultados obtenidos en las pruebas estadísticas aplicadas con el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel y los eufáusidos en este estudio. En la tabla también se muestran los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ máximos y mínimos obtenidos para cada grupo de muestras.....	48
Tabla VI. Número de machos, hembras e individuos no sexados de ballena azul avistados en cada región del Golfo de California.....	57

GLOSARIO

Barbas: Placas de queratina similares a pelos que forman hileras y cuelgan de cada lado de la mandíbula superior de las ballenas del orden Mysticeti (ballenas barbadas). Estas placas actúan como un filtro que les permite retener su alimento, como son peces, eufáusidos, entre otros.

Delta (δ): Valor relativo de desviación, expresado en partes por mil (‰), de las razones isotópicas de algún compuesto o muestra referenciadas a las de un material estándar internacionalmente aceptado (e.g. $\delta^{15}\text{N}$ es referenciado con el nitrógeno atmosférico y $\delta^{13}\text{C}$ con una calcita fósil llamada Pee Dee Belemnite).

Enriquecimiento isotópico: Incremento o bioacumulación del ^{15}N o el ^{13}C en los tejidos de los organismos, lo cual a su vez resulta en el incremento de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$. Por lo tanto la sustancia enriquecidas en ^{15}N o en el ^{13}C , están relativamente disminuidas en ^{14}N y ^{12}C .

Estenófago: Organismo que se alimenta de un tipo o una variedad limitada de especies, usualmente con modos de alimentación altamente especializada.

Fraccionamiento isotópico: Proceso que conlleva a una representación y, por ende, a una razón isotópica (valor δ) diferente.

Fraccionamiento trófico: Cambio en los valores isotópicos (valores δ) que se da entre la presa y el depredador.

Fuentes de variabilidad isotópica: Factores que modifican o afectan los valores isotópicos (valores δ), puede ser en el medio ambiente o en los tejidos de organismos.

Fuentes primarias: Son las formas de carbono y nitrógeno inorgánico del medio que utilizan los productores primarios para llevar a cabo la fotosíntesis. Estas pueden ser naturales (e.g. proveniente de eventos surgencias) o potencialmente de origen antropogénico (NH_4^- o NO_3^- contaminantes de descargas de ríos).

Isótopo: Son átomos del mismo elemento químico que tienen el mismo número atómico, es decir el mismo número de protones (Z) y electrones (e^-), pero diferente masa atómica (A) o número de neutrones (N).

Isótopo estable: Son isótopos que aparentemente no se descomponen o experimentan una desintegración espontánea a través del tiempo.

Isótopo ligero: Son isótopos del mismo elemento que tienen un menor número de neutrones o masa atómica (A) que los otros isótopos que lo conforman. Generalmente son los más abundantes en los compuestos y en la naturaleza.

Isótopo pesado: Son isótopos del mismo elemento que tienen un mayor número de neutrones o masa atómica (A) que los otros isótopos que lo conforman. Generalmente son los menos abundantes en los compuestos y en la naturaleza.

Isótopos radioactivo: Son isótopos inestables que se desintegran emitiendo partículas alfa y beta, para convertirse en isótopos estables.

Material orgánico particulado (MOP): Comprende todo el 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 sea mayor a $0.2 \mu\text{m}$ y menor a 1 cm . La definición operativa carece de una base funcional fundamentada.

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

Razón isotópica: Se refiere a la relación o proporción del isótopo pesado entre el ligero del mismo elemento, también puede denominarse señal isotópica.

Stock: Según Wang (2002), este término ha sido utilizado para referirse tanto a entidades biológicas como de manejo (aunque en muchos casos están combinadas o son inseparables). Un stock de manejo es un grupo monoespecífico de individuos que son manejados por separado de los otros individuos de la misma especie y no necesariamente la separación se basa en datos biológicos. Un stock biológicos se define como un grupo de individuos de la misma especie que coexisten en un mismo espacio y se reproducen con mayor frecuencia entre ellos que con individuos de otros stocks, una entidad con esta propiedad también ha sido llamada una población, subpoblación, unidad evolucionaría significativa (UES), deme o subespecie.

Tasa de recambio isotópico: Es el tiempo que tardan los tejidos de los organismos en presentar una señal isotópica particular y esta relacionada directamente con tasa de formación de los tejidos.

RESUMEN

Se estudiaron algunas de las fuentes de variabilidad que modifican las razones de isótopos estables de nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) y carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), denominadas $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ respectivamente, en la piel de las ballenas azules (*Balaenoptera musculus*) que migran entre las costas de California y el Golfo de California, mostrando por primera vez la utilidad de este tejido en el estudio de sus movimientos migratorios. También se determinó la relación trófica entre las ballenas y su presa principal, los eufáusidos; para lo cual se analizaron los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en heces fecales ($n=11$) y piel ($n=104$) de ballenas en el Golfo de California (enero-abril) y la costa occidental de Baja California (octubre), así como de eufáusidos (*Nyctiphanes simplex*; $n=16$) en el Golfo de California. Se comprobó que existe una reducida variabilidad en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ asociada al método de preservación de las muestras en dimetil sulfóxido (DMSO) en comparación con las muestras congeladas (-70°C), así como entre las cuatro capas de piel evaluadas a nivel individual (germinativa, intermedia, externa y piel descamada). La principal fuente de variabilidad en el $\delta^{13}\text{C}$ (-15‰ a -18.5‰) aparentemente estuvo asociada con las diferencias metabólicas entre machos y hembras, lo cual también se ha propuesto a partir de otras técnicas biomoleculares (ácidos grasos y contaminantes químicos), o con el desplazamiento constante de las ballenas entre las zonas costera y oceánica; mientras que la variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ (11.5‰ a 16.9‰) entre piel de diferentes individuos estuvo influida por los cambios mensuales de dicha señal. Las muestras de piel del mes de abril exhibieron un $\delta^{15}\text{N}$ significativamente mayor ($p<0.05$) que los otros meses, mientras que las muestras del mes de octubre presentaron valores menores que marzo y abril. Los valores bajos de $\delta^{15}\text{N}$ pueden representar la señal isotópica de las costas de California y la costa occidental de Baja California, cuya productividad primaria se basa en gran medida en las surgencias costeras donde las ballenas se alimentan en verano-otoño, mientras que los valores altos (abril) corresponden a la señal isotópica del Golfo de California, cuya productividad primaria nueva se basa principalmente en el reciclamiento de material orgánico particulado (MOP) donde las ballenas se alimentan en invierno-primavera. Esto indica que la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ esta probablemente asociada al movimiento de las ballenas entre áreas biogeoquímicamente distintas. El incremento paulatino observado en el $\delta^{15}\text{N}$ de la piel indica que su tasa de recambio metabólico es de aproximadamente tres meses, tiempo en el cual la señal isotópica de la presa *N. simplex* se detectó en este tejido. Las crías exhibieron $\delta^{15}\text{N}$ de 0.5 a 1.5‰ más altos que las madres, debido al fraccionamiento trófico que ocurre durante la lactancia. Los eufáusidos también presentaron una alta variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ (11.9‰ a 15.5‰) asociada a sus hábitos alimentarios omnívoro-oportunistas. Finalmente, un incremento isotópico del $\delta^{15}\text{N}$ (1 a 3‰) y $\delta^{13}\text{C}$ (1 a 2.8‰) entre el MOP, eufáusidos y ballenas, así como el decremento en las heces fecales ($\delta^{15}\text{N}:1.2\text{‰}$ y $\delta^{13}\text{C}:1.2\text{‰}$) con respecto a la piel, indican la relación entre estos niveles tróficos.

Palabras clave: Ballena azul, *Balaenoptera musculus*, isótopos estables de nitrógeno y carbono, piel, migración, costas de California, costa occidental de Baja California, Golfo de California, eufáusidos, *Nyctiphanes simplex*

ABSTRACT

In this study, several sources of variability that modify stable nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) and carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) ratios, $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ respectively, in the skin from the blue whales (*Balaenoptera musculus*) which migrate between the coast of California and the Gulf of California where evaluated. The former helped to demonstrate for the first time that this tissue is useful to study their migratory movements. The trophic relationship of the whales and their main prey, the euphausiids, was also established. To achieve this, we analyzed the $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values of faeces ($n=11$) and skin ($n=104$) from whales in the Gulf of California (january-april) and the western coast of Baja California (october), as well as from euphausiids (*Nyctiphanes simplex*; $n=16$) in the Gulf of California. A very low variability in the $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values was observed in the skin preserved in dimethyl sulfóxido (DMSO) in comparison to the frozen skin (-70°C), and in the four layers of skin (germinative, intermediate, external and sloughed skin) evaluated in each blue whale individual separately. The high variability in the $\delta^{13}\text{C}$ values (-15‰ a -18.5‰) was apparently directly related to the metabolic differences between males and females, this has already been proposed by other authors that used different biomolecular techniques (fatty acids and chemical contaminants), or the constant movement of whales between the nearshore and offshore areas. The variability in the $\delta^{15}\text{N}$ values (11.5‰ a 16.9‰) among the samples of skin from different individuals was directly influenced by the monthly changes in this signal. Skin samples from the month of april had statistically higher $\delta^{15}\text{N}$ values ($p<0.05$), in contrast with the other months, while the samples from october had statistically lower $\delta^{15}\text{N}$ values, than march and april. We presume that the lower $\delta^{15}\text{N}$ values, could represent the isotopic signal of the coasts of California and the western coast of Baja California, where the primary production is largely based on upwellings, and the whales feed during summer-autumn; while the high values (april) correspond to the isotopic signal of the Gulf of California, where the primary production is mainly based on the recycling of particulate organic matter (POM), where the whales feed in winter-spring. This evidence indicates that the variability in $\delta^{15}\text{N}$ values is probably related to the movement of whales between biogeochemical contrasting areas. The gradual increment observed in the $\delta^{15}\text{N}$ of the skin through the months, indicates that its turnover rate is approximately three months, time-period in which the isotopic signal of the prey, *N. simplex*, was detected in this tissue. Calves had $\delta^{15}\text{N}$ values 0.5 a 1.5‰ higher than lactating females; this has already been reported in other mammals. Euphausiids also exhibited a high variability in $\delta^{15}\text{N}$ (11.9‰ a 15.5‰) related to their feeding habits, since they are considered an opportunistic-omnivorous. Finally, the increase of $\delta^{15}\text{N}$ (1.3 a 3.4‰) and $\delta^{13}\text{C}$ (1.3 a 3.4‰) between the POM, euphausiids, and whales, as well as the decrease in feces ($\delta^{15}\text{N}:1.2\text{‰}$ and $\delta^{13}\text{C}:1.2\text{‰}$) compared to skin, show the relation between these trophic levels.

Key words: Blue whale, *Balaenoptera musculus*, stable isotopes of nitrogen and carbon, skin, migration, coast of California, western coast of Baja California, Gulf of California, euphausiids, *Nyctiphanes simplex*

1. INTRODUCCIÓN

La ballena azul (*Balaenoptera musculus*) actualmente es conocida como el animal viviente más grande del mundo; sin embargo, la información sobre sus poblaciones es relativamente escasa debido a su amplio ámbito de distribución en los océanos y a que exhibe complejos patrones migratorios estacionales relacionados con sus hábitos de alimentación y reproducción (Lockyer y Brown, 1981).

En el Pacífico Norte (PN), la Comisión Internacional Ballenera (CIB) aún considera un solo stock de ballenas azules (Donovan, 1991). Aun así existen datos (e.g. prospecciones en barcos y foto-identificación de ballenas) que sugiere la presencia de al menos cinco stocks en el PN (Calambokidis *et al.*, 1995; Forney *et al.*, 2000). Basándose en datos de repertorio acústico se ha propuesto que el grupo de ballenas azules del Pacífico Noreste esta separado de los del Pacífico Noroeste (Stafford *et al.*, 2001; McDonald *et al.*, 2006).

Algunas de las ballenas azules del Pacífico Noreste se alimentan en las costas de California durante el verano y otoño (Fiedler *et al.*, 1998). Una porción de estas ballenas migran hacia la costa occidental de la Península de Baja California en donde entran al Golfo de California (Calambokidis *et al.*, 1990), el cual es considerado como área de crianza y de alimentación desde fines de otoño hasta principios de primavera (Gendron, 2002). El patrón de migración anteriormente descrito es muy general, no obstante, la incertidumbre sobre la migración de estas ballenas surge cuando Chandler *et al.* (1999), con base en 12 fotografías y Mate *et al.* (1999), mediante marcadores satelitales, registraron ballenas que migran de las costas de California hacia el Domo de Costa Rica (DCR). El DCR es un remolino ciclónico de aproximadamente 200 km. de diámetro localizado cerca de los 9° latitud norte y 89° longitud oeste (Hofmann *et al.*, 1981). Con base en la alta productividad primaria de esta región, se ha propuesto que una porción de ballenas azules del Pacífico Noroeste utiliza el área del Domo de Costa Rica también como zona de alimentación primaveral (Reilly y Thayer, 1990; Chandler *et al.*, 1999; Mate *et al.*, 1999), pero aun

se desconoce si existe alguna una relación entre las ballenas que estacionalmente migran al Golfo de California y las del Domo de Costa Rica.

La dificultad del estudio de las poblaciones de animales migratorios radica en las limitaciones logísticas, tecnológicas y económicas que implica el censo de las mismas en su extenso ámbito de distribución. Por ello, muchos investigadores han recurrido al uso de marcadores extrínsecos, como son la foto-identificación y marcas de localización por satélite, para el seguimiento de los movimientos migratorios de los individuos (Calambokidis *et al.*, 1990; Mate *et al.*, 1999). No obstante, el costo de ambos es relativamente elevado y usualmente esto resulta en un reducido tamaño de muestra, lo cual limita el conocimiento de sus patrones migratorios a nivel poblacional (Hobson, 1999).

Una alternativa que ha resultado efectiva es el uso de marcadores intrínsecos, entre ellos las razones de isótopos estables de nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) y carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), denominadas $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ respectivamente (Best y Schell, 1996; Hobson, 1999; Lee *et al.*, 2005). Esta técnica se basa en el fraccionamiento isotópico, el cual es cualquier cambio en las razones de los isótopos pesados *versus* ligeros ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ y $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) en los tejidos. Sin embargo, el fraccionamiento isotópico puede ocurrir en relación a distintas fuentes de variabilidad como son: 1) las distintas dietas y/o zonas de alimentación de los organismos (Hobson, 1999; Das *et al.*, 2000), 2) el fraccionamiento trófico que se da entre la dieta (o presa) y el consumidor (o depredador; DeNiro y Epstein, 1978; Vander Zanden y Rasmussen, 2001; O'Reilly *et al.*, 2002) y 3) la variabilidad a nivel individual o entre individuos de distintos sexos y clases de edad, asociadas a la actividad metabólica del organismos o de la especie (Fry y Arnold, 1982; Gearing *et al.*, 1984; Sierzen *et al.*, 1996). Además, la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ permanecerá en los tejidos dependiendo de la tasa de recambio de los mismos, ya que los diferentes tejidos tienen distinta composición bioquímica y son anabolizados y catabolizados a diferentes tasas (Tieszen *et al.*, 1983; Walker *et al.*, 1999). Es por ello que en cualquier estudio que aborde el uso de esta técnica se deben considerar todas las fuentes de variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$

que se puedan evaluar (*e.g.* edad, talla, sexo, dieta, bioquímica del tejido, variabilidad individual y entre individuos, características biogeoquímicas de sus zonas de alimentación, métodos de preservación de tejidos, etc.) para poder hacer inferencias e interpretaciones mejor sustentadas sobre la ecología de los organismos (Gannes *et al.*, 1997; Gannes *et al.*, 1998; Unkovich *et al.*, 2001).

En varios estudios de cetáceos en vida libre en los que se ha aplicado la técnica de isótopos estables de nitrógeno y carbono se han utilizado muestras de piel (Todd *et al.*, 1997; Gendron *et al.*, 2001; Jaume-Schinkel, 2004; Ruiz-Cooley *et al.*, 2004), ya que ésta se puede obtener directamente de los individuos y tiene una logística de campo relativamente sencilla (Gendron *et al.*, 2001). Sin embargo, estos estudios no se enfocaron en los hábitos migratorios de estas especies, si no en las relaciones tróficas de los cetáceos con su dieta y en algunos casos debido al relativamente reducido tamaño de muestra no fue posible considerar otras fuentes de variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$.

Un problema adicional en el estudio de cetáceos es la limitada disponibilidad de muestras que se pueden coleccionar en el campo y su preservación adecuada. El uso del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en una matriz orgánica, está sujeto a que las muestras en el campo necesariamente deben ser preservadas inmediatamente después de ser coleccionadas. Esto asegura la viabilidad de la muestra para su análisis en el laboratorio. Los estudios en los que se ha evaluado el efecto de algunas sustancias químicas en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, mostraron una variabilidad isotópica en función del método de preservación (*e.g.* formol y etanol; Kaehler y Pakmov, 2001; Sarakinos *et al.*, 2002; Rau *et al.*, 2003). Los únicos métodos que no alteraron significativamente estos valores fueron el congelamiento (en congelador a -18°C) y la deshidratación con estufa, inmediatamente después de coleccionar el tejido (Kaehler y Pakmov, 2001). Por lo que el método de preservación es considerado como otra fuente de variabilidad que puede influir en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de los tejidos.

El dimetil sulfóxido (DMSO) es un producto secundario que se obtiene de los árboles durante la fabricación del papel, esta sustancia ha sido utilizada ampliamente para preservar tejidos para estudios genéticos, ya que tiene la capacidad de penetrarlos sin causar daños estructurales considerables (De la Torre, 1983). Actualmente en el Laboratorio de Ecología de Mamíferos Marinos del CICIMAR-IPN (Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional), existen un gran número de muestras de piel de ballena azul preservadas en DMSO, que además cuentan con información paralela de foto-identificación, por lo que es posible seguir a individuos de ballena azul en una escala temporal mayor. En un estudio preliminar sobre el efecto del DMSO se concluyó que este preservador no influyó en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de la ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*; Todd *et al.*, 1997). Sin embargo aún se desconoce si este compuesto altera los resultados de $\delta^{15}\text{N}$ en la piel.

En el presente estudio se evaluaron algunas de las fuentes de variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ causadas por el método de preservación (DMSO vs. congelado); en el tejido; a nivel individual; comparando entre individuos; sexos; clases de edad; meses, áreas de alimentación; y por la dieta) de la piel y heces fecales de ballenas azules que visitan estacionalmente el Golfo de California y la costa occidental de Baja California. Con el conocimiento del efecto relativo de estas fuentes de variabilidad en las señales isotópicas de la piel, se demuestra que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en este tejido proporcionan información sobre el movimiento estacional de las ballenas entre sus áreas de alimentación (las costas de California, la costa occidental de Baja California y el Golfo de California) y sus relaciones tróficas con las presas que comúnmente conforman su dieta.

2. ANTECEDENTES

La ballena azul es una especie típicamente migratoria (Lockyer y Brown, 1981). Sin embargo, algunas de las ballenas azules del Pacífico Noreste, a diferencia de la mayoría de las especies de ballenas barbadas que presentan periodos de ayuno durante su época de reproducción y crianza (Lockyer y Brown, 1981), se alimenta durante todo el año tanto en áreas de alimentación (verano-otoño) como de crianza (invierno-primavera; Gendron, 2002). Por esta razón se ha planteado que sus patrones estacionales de distribución están estrechamente asociados con sus requerimientos alimenticios (Reeves *et al.*, 1998; Gendron, 2002). La ballena azul es una especie estenófaga que se alimenta exclusivamente de krill o eufáusidos (Nemoto, 1957; 1959; 1970; Gaskin, 1982).

En el Pacífico Norte existe relativamente poca información y definición sobre cuantos stocks de ballenas azules existen, así como de sus principales patrones migratorios. En la actualidad la información adquirida de cacería, prospecciones en barcos y foto-identificación de ballenas sugiere la presencia de cinco stocks: 1) al sur de Japón, 2) al norte de Japón, 3) en las Islas Aleutianas, que posiblemente pasan el invierno lejos de las costas al norte de Hawai, 4) en la parte oriental del Golfo de Alaska y 5) el de California-México (Calambokidis *et al.*, 1995; Forney *et al.*, 2000). Sin embargo, se desconoce cuál es la relación entre éstas ballenas y las que están presentes todo el año en el Domo de Costa Rica (Reilly y Thayer, 1990).

La amplitud de la distribución de la ballena azul y la escasa información sobre las relaciones que existen entre los posibles stocks, reflejan la necesidad de aplicar múltiples aproximaciones biogeoquímicas, dentro de marcos multidisciplinarios, como alternativas para inferir y responder preguntas básicas sobre sus patrones migratorios, hábitos alimentarios y relaciones tróficas con su presa. La implementación de distintas técnicas utilizando trazadores como los ácidos grasos, contaminantes químicos (plaguicidas organoclorados y bifenil policlorados), análisis moleculares de ADN y la abundancia natural de isótopos estables en los tejidos de

animales, han resultado eficientes para resolver algunas de las incógnitas relacionadas con animales migratorios (Hobson, 1999).

El análisis de isótopos estables de nitrógeno y carbono, ($\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$) es una técnica que ha sido ampliamente utilizada en el estudio de organismos marinos incluyendo a los mamíferos marinos. La señal isotópica, que se detecta en los tejidos de los organismos, provee información referente a 1) la dieta, ya que la señal isotópica da información acerca del alimento que ha sido metabolizado y asimilado (Vander Zanden y Rasmussen, 2001; O'Reilly *et al.*, 2002); 2) las áreas de alimentación, debido a que las señales isotópicas de la base de la cadena trófica varían espacialmente en función de los procesos biogeoquímicos que se llevan a cabo en los ecosistemas entre los que se desplazan y alimentan los organismos, y esto a su vez se detecta en las señales isotópicas de las presas que consumen (Hobson, 1999); y 3) sobre las relaciones tróficas, porque se asume que hay un enriquecimiento isotópico relativo de la señal isotópica del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ con el incremento de nivel trófico. Por lo general, existe una bioacumulación de los isótopos pesados en los tejidos, mientras que los isótopos ligeros son proporcionalmente más fácilmente excretados en la orina, lo que permite discriminar entre niveles tróficos. Lo anterior se refiere a que entre cada consumidor y su dieta hay un enriquecimiento isotópico que teóricamente es de aproximadamente 3 a 5‰ en el $\delta^{15}\text{N}$ y de 0.5 a 3‰ en el $\delta^{13}\text{C}$ (Das *et al.*, 2000; Kelly, 2000; Vander Zanden y Rasmussen, 2001; O'Reilly *et al.*, 2002). Sin embargo, esta premisa puede diferir entre ecosistemas, entre especies y entre individuos con metabolismos distintos (Gannes *et al.*, 1997; Gannes *et al.*, 1998; Vander Zanden y Rasmussen, 2001; O'Reilly *et al.*, 2002). De manera general, la información de la señal isotópica del carbono permite inferir sobre las fuentes primarias de energía (por ejemplo para distinguir la alimentación costera vs. oceánica o béntica vs. pelágica), mientras que el nitrógeno permite discriminar entre niveles tróficos relativos (O'Reilly *et al.*, 2002).

Las ballenas azules del stock de California-México migran entre ecosistemas que exhiben distintas señales isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$ en el material orgánico particulado (MOP), como son las costas de California y Baja California en donde el $\delta^{15}\text{N}$

promedio en MOP es de $7 \pm 0.9\text{‰}$ (Altabet *et al.*, 1999; Voss *et al.*, 2001; Miller, 2006), y el Golfo de California en donde el $\delta^{15}\text{N}$ promedio en MOP es de $11 \pm 0.7\text{‰}$ (Altabet *et al.*, 1999). Aunado a lo anterior, fuera de la costa de California las ballenas azules se alimentan principalmente de los eufáusidos *Thysanoëssa spinifera* y *Euphausia pacifica* (Rice, 1986; Schoenherr, 1991; Kieckhefer *et al.*, 1995; Fiedler *et al.*, 1998), mientras que en las costas de Baja California y el Golfo de California se alimentan principalmente del eufáusido *Nyctiphanes simplex* (*N. simplex*; Gendron, 1992; Del Ángel-Rodríguez, 1997; Mejía-Acosta, 2003), el cual puede llegar a constituir de un 96 al 100% de las mandíbulas encontradas en sus heces fecales. La ballena azul también se alimentan en menor medida del eufáusido *Nematoscelis difficilis*, que únicamente constituye del 1 al 4% de las mandíbulas encontradas en las heces fecales (Del Ángel-Rodríguez, 1997). Esta información representa el marco conceptual que motiva la presente investigación utilizando los isótopos estables de nitrógeno y carbono como trazadores para inferir sobre los patrones de migración y las relaciones tróficas de la ballena azul, mediante la comparación espacio-temporal de cambios en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en su piel y en su presa *N. simplex* (presa principal). Debido a que el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ que se detecta en las heces fecales pueden dar información complementaria sobre la dieta inmediata del organismo, la cual consumió algunas horas antes, también fueron consideradas en la presente investigación (Unkovich *et al.*, 2001; Codron *et al.*, 2005).

Los tejidos que se han utilizado en estudios de migración de cetáceos, aplicando la técnica de isótopos estables de nitrógeno y carbono, han sido principalmente obtenidos de muestras de músculo y barbas de animales cazados (Hobson, 1999). Best y Schell (1996) demostraron que la variabilidad en el $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo de toda la barba de la ballena franca (*Eubalaena australis*) estaba asociada a su desplazamiento entre las costas de Sudáfrica, en donde el MOP presenta bajos valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, y la Convergencia Subtropical (CST) en la cual el MOP presenta $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ significativamente más altos. Estos autores asociaron la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ a los cambios espacio-temporales en las tasas metabólicas de esta especie, ya que durante su migración al norte aparentemente dejan de

alimentarse. En otro estudio realizado por Lee *et al.* (2005) mostraron resultados similares en muestras de músculo y barba de la ballena de Groenlandia (*Balaena mysticetus*), asociando la variabilidad del $\delta^{13}\text{C}$ al cambio de dieta, de las ballenas, entre sus áreas de alimentación, ya que en el mar de Bering-Chuckchi se alimentan principalmente de eufáusidos y en el mar de Beaufort incrementa su consumo de copépodos. Sin embargo, la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de músculo la asociaron a un posible decremento decadal del $\delta^{15}\text{N}$ ambiental en sus áreas de alimentación.

La piel de cetáceos también ha sido utilizada en estudios que aplican la técnica de isótopos estables de nitrógeno y carbono, pero enfocados a inferir sobre las relaciones tróficas entre éstos con sus presas (Gendron *et al.*, 2001; Jaume-Schinkel, 2004; Ruiz-Cooley *et al.*, 2004). En los cetáceos, este tejido se distingue por carecer totalmente de glándulas y sólo presentar pelos con forma de cerdas alrededor del hocico (Harrison, 1974; Harrison y Thurley, 1974; Ling, 1974). La piel está formada por dos capas la dermis y la epidermis. La dermis se encuentra por encima de la hipodermis (capa de grasa), mientras que la epidermis está por encima de la dermis y es la capa que se encuentra en contacto con el medio exterior. Así mismo, la epidermis se subdivide en más capas, pero hay controversias con respecto a cuantas son y por lo general varía según el criterio de cada autor. Harrison y Thurley (1974) y Geraci *et al.* (1986) reconocen tres capas: la capa basal o germinativa, que constantemente produce células por procesos de división celular mitótica; la capa intermedia o espinosa; y la capa externa, que no se considera un estrato corneo debido a que las células de esta capa son paraqueratóticas, es decir que no se queratinizan completamente.

La tasa de recambio de la piel se lleva a cabo a nivel de la epidermis y se define como el tiempo que tardan las células de la capa germinativa en ser expulsadas o descamadas al agua (Hicks *et al.*, 1985; Geraci *et al.*, 1986). La piel tiene una tasa de recambio relativamente corta con respecto a otros tejidos (*e.g.* hueso y músculo; Walker *et al.*, 1999), pero en el caso de los grandes cetáceos de vida libre se

desconoce debido a que es logísticamente complicado realizar estudios experimentales para estimarla en condiciones de cautiverio. Algunos investigadores determinaron la tasa de recambio de la piel de odontocetos en cautiverio (delfín nariz de botella, *Tursiops truncatus* y belugas, *Delphinapterus leucas*) utilizando timidina marcada de forma radioactiva en las células epidérmicas, y estimaron que la tasa de recambio fluctúa entre los 70 y 75 días (Brown *et al.*, 1983; Hicks *et al.*, 1985; Aubin *et al.*, 1990).

Con la información previamente expuesta es probable que la piel de ballena azul del Golfo de California podría proveer información sobre la señal isotópica promedio de los ecosistemas entre los cuales migra estacionalmente y se alimenta (Costas de California y Baja California, y el Golfo de California) e información sobre las relaciones tróficas de estas con sus presas, los eufáusidos. No obstante, para comprobar lo anterior, primero se deben evaluar las diferentes fuentes de variabilidad que puedan modificar la señal isotópica del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de ballena azul.

3. JUSTIFICACIÓN

La técnica del uso de isótopos estables de nitrógeno y carbono es una herramienta que puede proveer información relevante sobre la ecología trófica de los organismos (Hobson, 1999; Kelly, 2000; Unkovich *et al.*, 2001; O'Reilly *et al.*, 2002). Hasta la fecha esta técnica ha sido utilizada para realizar inferencias ecológicas de una gran cantidad de organismos (Unkovich *et al.*, 2001), incluyendo a los cetáceos (Kelly, 2000). Sin embargo, en muchos de estos trabajos (Todd *et al.*, 1997; Gendron *et al.*, 2001; Hooker *et al.*, 2001; Jaume-Schinkel, 2004) no se ha considerado algunas de las potenciales fuentes de variabilidad que pueden influir en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, lo cual puede conducir a complicaciones en la interpretación de los resultados o realizar interpretaciones erróneas (Gannes *et al.*, 1997; Unkovich *et al.*, 2001).

Actualmente muchos aspectos de la ecología trófica, patrones migratorios y estructura poblacional de la ballena azul que visita el Golfo de California en invierno y primavera se desconocen. En este estudio se propone analizar algunas de las posibles fuentes de variabilidad de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de ballena azul, ya que este tejido podría proveer información para el estudio e inferencia de sus patrones migratorios, así como de su ecología trófica.

Asimismo, la posibilidad de evaluar el efecto de la preservación de piel en DMSO, en comparación con la preservación en congelado, sobre los $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de este tejido, abre nuevas perspectivas para el uso de los bancos de muestras de piel preservada en dicho compuesto, lo cual es relevante para las líneas de investigación de cetáceos en CICIMAR-IPN y otras instituciones regionales como la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS), Universidad Autónoma de Baja California (UABC), Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), entre otras.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- Evaluar algunas de las fuentes de variabilidad isotópica que modifican el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en piel de ballenas azules que visitan el Golfo de California y la costa occidental de Baja California, con el fin de realizar inferencias sobre la migración entre áreas de alimentación de esta especie.

4.2. Objetivos particulares

- Evaluar la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en:
 - ◆ La piel preservada en dimetil sulfóxido (DMSO) vs. la congelada (a -70°C).
 - ◆ Las distintas capas de la epidermis (capas germinativa, intermedia y externa) de la piel.
 - ◆ La piel a nivel individual, entre sexos y clases de edad (cría, juvenil, adulto y hembras lactantes).
 - ◆ La piel de diferentes regiones del Golfo de California (norte vs. sur; costera vs. oceánica).
 - ◆ La piel colectada a través de los meses en diferentes áreas de su migración: enero-abril (Golfo de California) y octubre (costa occidental de Baja California).
 - ◆ Su presa principal el eufáusido *N. simplex* dentro del Golfo de California y en sus heces fecales.

5. MÉTODOS

5.1. Área de estudio

5.1.1. Golfo de California

El estudio se realizó en su mayor parte a lo largo del Golfo de California, considerado un mar marginal localizado en el noroeste de México, en donde colinda con la semidesértica península de Baja California al oeste y con los estados áridos de Sonora, Sinaloa y Nayarit al este y en su extremo sur se comunica con el Océano Pacífico (entre los 23° y 30° N y los 107° y 115° O; Figura 1). El Golfo de California tiene aproximadamente una longitud de 1000 Km de largo y de 100 a 200 Km de ancho (Roden y Grooves, 1959; Roden, 1964).

Un aspecto importante del Golfo de California es que representa la única cuenca de evaporación del Océano Pacífico. La cadena de montañas, con elevaciones de 1 a 3 km de altitud, situada a lo largo de la península de Baja California disminuye el moderado efecto del Océano Pacífico en el clima del Golfo de California, lo cual altera las tasas de evaporación en este mar y esto se refleja en el amplio intervalo anual de temperatura que exhibe tanto en la atmósfera como en el mar (Roden y Grooves, 1959; Roden, 1964; Álvarez-Borrego, 1983; Schrader y Baumgartner, 1983; Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). Estas características le confieren una especial relevancia biogeográfica únicas con implicaciones en la diversidad aun no completamente entendidas.

La dinámica estacional, termodinámica y circulación en el Golfo está regida en orden de importancia por ondas de frecuencias bajas y frecuencias semidiurnas de ondas de mareas del el Océano Pacífico (Lavín y Marinone, 2003), forzamiento por viento sobre la superficie del mar (Marinone, 2003) y los balances de calor y agua en la superficie (Jiménez *et al.*, 2005). Es por ello que la circulación del agua, las corrientes y las mareas son extremadamente variables y a lo largo del Golfo hay una serie de giros y remolinos mesoescalares (Figueroa *et al.*, 2003; Lavín y Marinone, 2003; Parés-Sierra *et al.*, 2003).

Por su hidrografía y oceanografía, el Golfo se puede dividir en varias regiones según la base en que se sustente. Una de las divisiones más simplificada es la propuesta por Álvarez-Borrego (1983) quién sugiere dos regiones, norte y sur, separadas por las islas Ángel de la Guarda, San Lorenzo, San Esteban y Tiburón, agrupadas a lo largo de la latitud 29°N.

La región norte del Golfo de California es relativamente somera, su profundidad media es menor a los 200 m, exceptuando la zona del Canal de Ballenas y la cuenca Delfín que tienen profundidades de 1000 a más de 1600 m respectivamente (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). En esta región la precipitación pluvial es escasa y las descargas de ríos con flujo fluvial continuo son prácticamente inexistentes (hace 100 años el Río Colorado aportaba importantes descargas en esta región), lo cual le confiere actualmente características oceanográficas particulares con intensa evaporación; fuertes gradientes en la temperatura (16°C - 31°C) a lo largo de la columna de agua en verano por el efecto de la radiación solar y la falta de procesos de mezcla del agua, mientras que en invierno es prácticamente homogénea con isotermas (14°C); la salinidad alcanza los valores más elevados de todo el Golfo (S‰ 35.2 a 36; Álvarez-Borrego, 1983); y la concentración de oxígeno disuelto a lo largo de la columna de agua disminuye con la profundidad, las concentraciones de saturación en la superficie del mar llegan a ser de 5 a 6 ml · l⁻¹, mientras que a profundidades de 100 a 150 m las concentraciones pueden llegar a ser menores a 0.5 ml · l⁻¹ (Álvarez-Borrego, 1983; Schrader y Baumgartner, 1983).

La región sur del Golfo de California, está constituida por una serie de cuencas y trincheras que paulatinamente se vuelven más profundas hacia la boca del Golfo de California e inclusive llegan a alcanzar los 3,000 m. de profundidad, por lo que está en comunicación abierta con el océano (Roden y Grooves, 1959; Álvarez-Borrego, 1983; Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). En esta región la tasa de evaporación es menos intensa que en la región norte del Golfo, la precipitación se presenta usualmente en los meses de verano y existen algunas descargas temporales de ríos en la costa oriental. Debido a la amplia variación en la profundidad de esta región la temperatura (verano: 8°C a 31°C e invierno: 2°C a 21°C), concentración de salinidad

($S_{\text{‰}}$ 33.9 a 35.5) y concentración de oxígeno disuelto (0.1 a $6 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$) a lo largo de la columna es muy variable (Álvarez-Borrego, 1983). Además influye la presencia de las distintas masas de agua que confluyen en la región sur en la parte de la boca del Golfo de California en donde se mezcla con el agua del Océano Pacífico (Roden y Grooves, 1959; Álvarez-Borrego, 1983; Schrader y Baumgartner, 1983).

En la región sur a la altura de la boca del Golfo de California (Figura 1), éste se encuentra en contacto directo con el Océano Pacífico. En esta región existen tres masas de agua por arriba de los 200 m: 1. agua de la Corriente de California, que es agua fría ($12 \leq T^{\circ}\text{C} < 18$) de baja salinidad ($S_{\text{‰}} \leq 34.5$) y fluye hacia el sur por la costa occidental de la península, 2. agua Superficial del Pacífico Oriental Tropical con temperaturas ($T \geq 18^{\circ}\text{C}$) y salinidades intermedias ($S_{\text{‰}} < 35$), ésta fluye del sureste y 3. agua del Golfo de California que presenta temperaturas ($12 \geq T^{\circ}\text{C} \leq 22$) y salinidades relativamente altas ($S_{\text{‰}} > 35$), por ello se encuentra por encima de las otras dos masas de agua (Álvarez-Borrego y Schwartzlose, 1979; Torres-Orozco, 1993). Por otro lado, por debajo de las tres masas superficiales, es posible encontrar otras 3 masas de agua profundas: 1. agua Subsuperficial Subtropical ($34.5 < S_{\text{‰}} < 35$; $9 \leq T^{\circ}\text{C} < 18$), 2. agua Intermedia del Pacífico ($34.5 \leq S_{\text{‰}} < 34.8$; $4 \leq T^{\circ}\text{C} < 9$) y 3. agua Profunda del Pacífico ($S_{\text{‰}} < 34.5$; $T < 4^{\circ}\text{C}$; Torres-Orozco, 1993). Es posible que el agua Superficial del Pacífico Oriental Tropical y la Subsuperficial Subtropical lleguen únicamente a la boca del Golfo en invierno y principios de primavera, pero para verano y otoño alcanzan a llegar hasta el sur de las grandes Islas (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991).

En la actualidad los estudios de los nutrientes y la química del Golfo de California son escasos (Lluch-Cota *et al.*, 2007). Sin embargo, se conoce que el aporte de nutrientes a las capas superficiales se da principalmente por los siguientes procesos: 1. la intensa acción de las corrientes de marea, que provocan mezcla de marea particularmente intensa alrededor de las Grandes Islas (Islas Ángel de la Guarda e Isla Tiburón) en donde este proceso se lleva a cabo todo el año; y 2. eventos de surgencias costeras, principalmente las forzadas por la acción de los vientos del noroeste durante invierno y primavera a lo largo de la costa oriental. Ambos

mecanismos facilitan el afloramiento de los nutrientes hacia la zona eufótica (Jiménez *et al.*, 2005; Lluch-Cota *et al.*, 2007). De manera general se ha registrado una tendencia al incremento en la concentración de nutrientes superficiales (fosfatos, nitratos, nitritos y silicatos) de la boca del Golfo hacia la región de la Isla Ángel de la Guarda y posteriormente un decremento hacia la región Norte del Golfo; en esta los última la concentración de nutrientes lo largo de la columna de agua presentan máximos y mínimos en invierno y primavera, esto se debe a que hay un movimiento convectivo en invierno, donde el agua fría y salina se hunde hasta el fondo y se desplaza al sureste (Zeitzschel, 1969; Álvarez-Borrego, 1983; Álvarez-Borrego y Schwartzlose, 1979).

Las bajas temperaturas superficiales del mar durante el verano a lo largo de la costa occidental del Golfo de California mucho fueron considerados por mucho tiempo eventos de surgencias asociados a la acción que ejercen los vientos del sureste en esta estación del año (Roden y Grooves, 1959; Roden, 1964), no obstante se ha planteado que es posible que este patrón esté asociado a la entrada de agua caliente del sur forzada por la acción de los vientos sureños (Juillet-Leclerc y Schrader, 1987) o a que la zona del Golfo aledaña al continente se calienta a una mayor tasa que la zona cercana a la península (Lluch-Cota *et al.*, 2007).

Son escasos los trabajos relacionados con la productividad primaria en el Golfo de California. Álvarez-Borrego y Lara-Lara (1991) realizaron un estudio sobre la producción primaria integrada y encontrando que los valores más elevados se presentaron durante primavera y los más bajos durante verano; y que los valores más comunes son $>1\text{gC m}^{-2}\text{ día}^{-1}$, pero pueden llegar a ser de $>4\text{gC m}^{-2}\text{ día}^{-1}$. Mientras que Kahru *et al.* (2004), estimaron la concentración superficial de clorofila *a* (C_{sat}) y producción primaria neta del fitoplancton (PPN), derivados de datos satelitales. Estos investigadores demostraron que hay una gran variabilidad a múltiples escalas temporales en la C_{sat} , siendo la escala temporal anual la que exhibió la mayor variabilidad en todo el Golfo de California, exceptuando la zona de las Grande Islas (que abarca la Isla Tiburón, Isla Ángel de la Guarda y otras 10 islas más pequeñas) en donde la mayor variabilidad en la C_{sat} se presentó en la escala

temporal semianual. El total de PPN integrada en todo el Golfo de California tuvo su mayor concentración promedio en abril del 2001 (23 Tg C mes^{-1} ; $\text{Tg} = 10^{12}\text{g}$) y la concentración promedio más baja ocurrió en el mes de agosto de 1998 ($3.7 \text{ Tg C mes}^{-1}$).

Durante los periodos que se han reportado elevadas tasas de productividad primaria se ha encontrado también la presencia de grandes volúmenes de zooplancton y en la región norte, durante el invierno, se presentan los volúmenes máximos ($13\text{-}25 \text{ ml de plancton m}^{-3}$) que llegan a exceder los estimados para las áreas de surgencias costeras (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991).

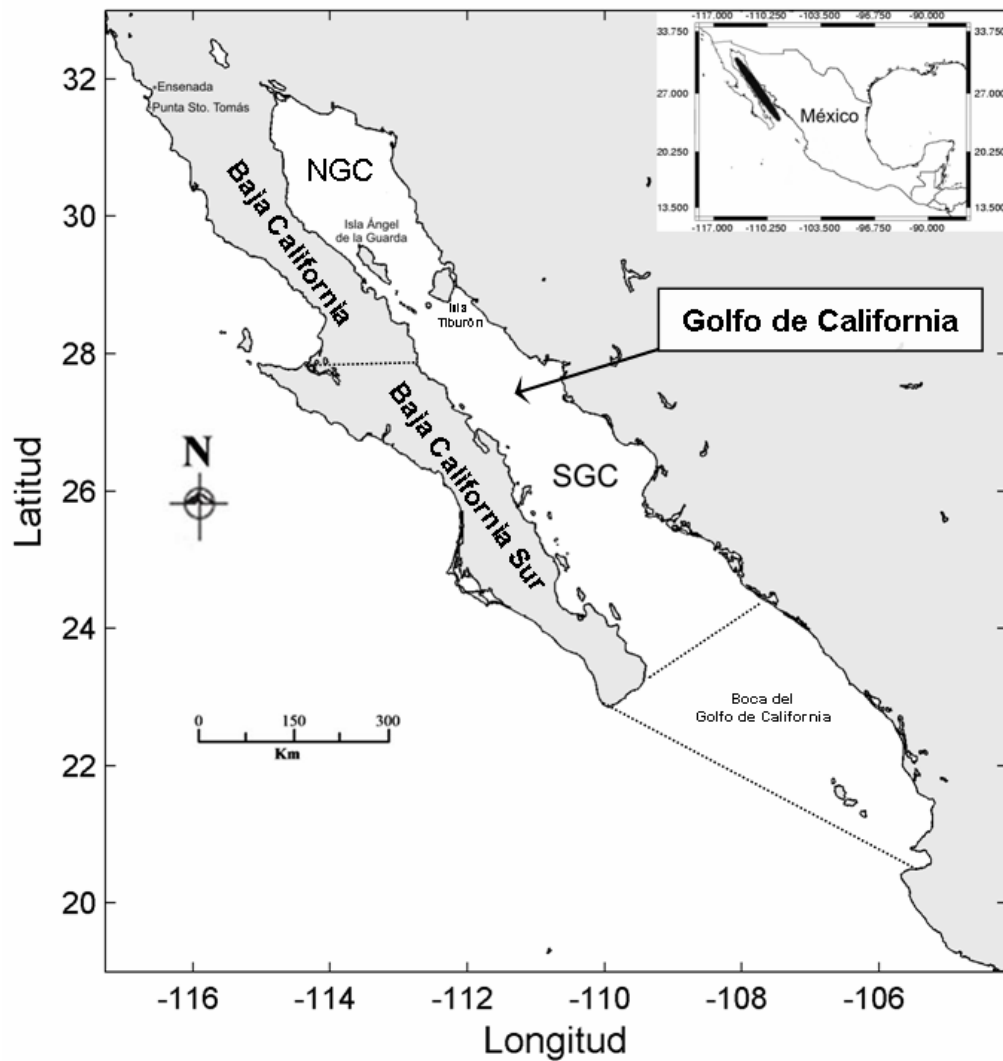


Figura 1. Área de estudio. Golfo de California (regiones norte: NGC y sur: SGC) y la costa occidental de Baja California.

5.1.2. Costa occidental de Baja California

Una parte del estudio se llevó a cabo en la porción norte de la costa occidental del estado de Baja California (alrededor de la latitud 31° N y longitud 116° O; Figura 1.), abarcando desde la Bahía Todos Santos, que colinda con la ciudad de Ensenada al noreste y está delimitada al norte por Punta San Miguel y en su extremo sur por Punta Banda (Peña-Manjarrez *et al.*, 2005), hasta Puerto Santo Tomas localizada a 28 km hacia el sur de la Bahía Todos Santos.

Las condiciones oceanográficas de la costa occidental de Baja California están altamente influenciadas por la Corriente de California, la cual es relativamente somera (0-100 m) y fluye de forma paralela a la costa con una banda de influencia de 200 a 400 km de ancho. En la costa occidental de Baja California, el agua de la Corriente de California lejana a la costa exhibe características de la masa de agua Subártica, que son de bajas temperaturas y salinidades y altas concentraciones de oxígeno disuelto y fosfatos (Reid *et al.*, 1958). Otra masa de agua presente en la costa occidental de Baja California es la del Pacífico Ecuatorial, la cual se puede distinguir de otras por la relación de temperatura y salinidad que presenta. Esta masa de agua se encuentra por debajo de los 200 m de profundidad; sin embargo, en esta zona la masa de agua ha permanecido por un largo periodo de tiempo debajo de la superficie ya que exhibe bajas concentraciones de oxígeno y fosfatos, lo cual es el resultado de una intensa descomposición de materia orgánica que proviene de la superficie (Reid *et al.*, 1958). La intensidad de la influencia de dicha masa de agua varía estacionalmente y es influenciada también por los eventos de El Niño Oscilación del Sur (ENOS; Durazo *et al.*, 2005).

Las características hidrográficas específicamente del área de estudio entre 31° N y 116° O son temperaturas superficiales de 15°C a 20°C en primavera y verano, y de 14°C a 17°C durante invierno y otoño, salinidad a lo largo de la columna de agua de 33.6 a 34‰, concentraciones de oxígeno disuelto a lo largo de la columna de agua de 0.5 a 6 ml l⁻¹ y concentraciones de fosfato de 3 a 0.5 µg-at/L (Reid *et al.*, 1958; Roden, 1971; Durazo *et al.*, 2005).

Los vientos que afectan la costa occidental de Baja California principalmente son de dirección norte y noroeste y presentan una amplia variación estacional. En verano y otoño son relativamente débiles, pero para invierno incrementan y en primavera alcanzan su velocidad máxima. Es en esta temporada cuando la intensidad del viento, aunado con el efecto de coriolis de la tierra resultan en intensos eventos de surgencias costeras que presentan sus máximos de Abril a Junio. Estas surgencias representan un importante aporte de nutrientes a la zona eufótica y se han relacionado con las altas tasas de productividad primaria en la costa occidental de Baja California, ya que las altas concentraciones de fosfatos y nutrientes en el agua son favorables para el desarrollo de fitoplancton y esto también favorece la presencia de grandes volúmenes de zooplancton que se han reportado principalmente en las áreas en donde la mezcla de agua y las surgencias son más intensas (Reid *et al.*, 1958; Roden, 1971; Zaytsev *et al.*, 2002).

El sistema de la Corriente de California exhibe cambios en la intensidad de sus corrientes tanto a escala estacional como interanual, esto se relaciona estrechamente asociados con los cambios en la circulación atmosférica en latitudes medias que por lo general resultan en eventos ENOS (Durazo *et al.*, 2005).

5.2. Trabajo de campo

5.2.1. Colecta de datos y muestras

Las salidas se realizaron en el invierno y principios de primavera entre los años de 1999 y 2007 a bordo de embarcaciones menores (pangas y lanchas) y en algunas ocasiones en barcos. Los recorridos no fueron sistemáticos a una velocidad aproximada de 10 nudos y buscando a las ballenas con y sin ayuda de binoculares (Fujinon 7 x 50). Aunque la mayoría del esfuerzo proviene de la región ubicada entre Loreto y la Bahía de La Paz, también se realizaron prospecciones en las diferentes regiones del Golfo de California en distintas temporadas e incluso en la costa occidental de Baja California en el mes de octubre del 2006.

Una vez localizado algún cetáceo, la embarcación se dirigió hacia el mismo para identificar la especie. A cada ballena azul avistada se le tomó fotografías de identificación siguiendo el protocolo de Sears (1987). Las fotos se tomaron utilizando una cámara de 35 mm equipada con un lente 80-300 mm y motor integrado, con película blanco y negro de ASA 400; y en los últimos años se utilizó una cámara Canon digital EOS 10D y 20D. De los animales fotografiados se buscaron fragmentos de piel descamada (Figura 2) en los primeros metros de la superficie del mar dentro de la huella que deja el individuo después de que realiza una inmersión profunda (Gendron y Mesnick, 2001). Los fragmentos de piel se colectaron mediante una red para albercas de 30 x 20 cm. Con el fin de evaluar el efecto por preservación con DMSO en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las muestras de piel descamada, parte de éstas se almacenaron con dicho preservador y para poder comparar con un “control”, otras fueron preservados en nitrógeno líquido (-90°C), que es el único método accesible para mantenerlas congeladas en el campo, ya que según Kaehler y Pakmov (2001) este método de preservación no altera el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de los tejidos.

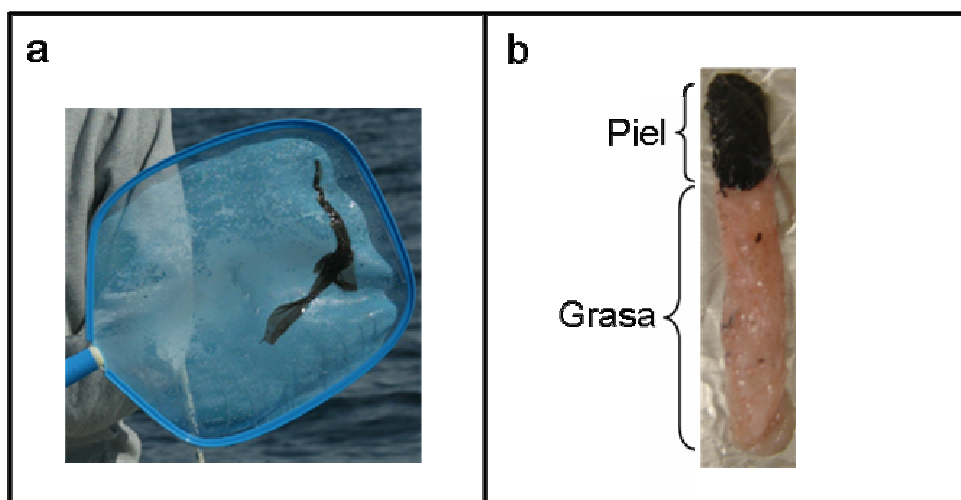


Figura 2. Muestras de piel descamada en la red (a) y biopsias de piel y grasa adquirida mediante una ballesta (b).

Las biopsias (Figura 2) se obtuvieron mediante una ballesta de 25.3 kg de empuje que fue cargada con flechas de puntas modificadas para penetrar 4 cm de tejido obteniendo así aproximadamente 1 a 1.5 cm de piel y de 2 a 3 cm de grasa,

dependiendo del ángulo en el que penetraba la punta. Las muestras fueron congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido después de su colecta. En el transcurso se registró en una bitácora: la posición geográfica del avistamiento mediante el uso de un geoposicionador por satélite (GPS - Garmin 12 XL) y se le asignó un número a cada muestra de piel descamada y de biopsia asociado a las fotografías tomadas de cada individuo.

Adicionalmente, cada vez que alguna ballena azul defecaba durante los avistamientos, se colectaron muestras de heces fecales utilizando una red de 1 mm de luz malla y posteriormente se congelaron en nitrógeno líquido.

Durante la noche, cada vez que se localizaban eufáusidos en superficie se colectaron entre 10 y 15 organismos utilizando la red para muestras de piel descamada y se anotó en la bitácora el día, hora y la posición geográfica del muestreo. Posteriormente se congelaron en nitrógeno líquido.

Finalmente, en las instalaciones de CICIMAR las muestras de biopsias, piel descamada, heces fecales y eufáusidos se trasladaron a un congelador (a -70°C), mientras que las muestras preservadas en DMSO se almacenaron en un refrigerador de uso doméstico (5°C).

5.3. Trabajo de Laboratorio

5.3.1. Foto-Identificación

Las fotografías de ballena azul son utilizadas para la identificación y el seguimiento de cada individuo a través de los meses y años durante los cuales son avistados (Gendron, 2002; Ugalde de la Cruz, 2005). Cuando un individuo es fotografiado de nuevo se le denomina “foto-recaptura”. En el Laboratorio de Ecología de Mamíferos Marinos de CICIMAR se seleccionaron e imprimieron las mejores fotografías obtenidas durante las salidas para ser comparadas con las del catálogo (1985-2007). Cada animal se identificó con base en su patrón de pigmentación natural individual en ambos costados del dorso, que no varía a través del tiempo, así como las

características morfológicas de la aleta caudal en vista ventral (Gendron, 2002; Ugalde de la Cruz, 2005).

5.3.2. Selección de muestras de piel y de eufáusidos

La selección de muestras de piel descamada y de piel de biopsias se llevó a cabo haciendo una revisión de la base de datos de ballena azul (1999-2007). Durante la revisión se tuvieron en cuenta las muestras de piel descamada preservada en DMSO y congeladas en nitrógeno líquido, los años en los que existían muestras para todos los meses de la temporada (enero-abril) y de los individuos que presentaban foto-recapturas entre meses.

Los eufáusidos que se colectaron fueron identificados hasta nivel de especie mediante un estereoscopio (Olympus), a un aumento de 40x y con la ayuda de las claves de identificación de Baker *et al.* (1990) y Brinton *et al.* (2000). Para efectos de este estudio únicamente se utilizaron las muestras de eufáusidos adultos, sin huevos, de la especie *N. simplex*, ya que es la presa principal de la ballena azul en las costas de Baja California y en la Bahía de La Paz (Del Ángel-Rodríguez, 1997; Mejía-Acosta, 2003).

5.3.3. Descripción histológica de la piel de ballena azul

La descripción e información reciente sobre la histología de la piel de ballena azul es muy escasa (e.g. Sokolov, 1960), por lo que fue necesario realizar un estudio histológico de algunas biopsias para así tener una noción general de la disposición y morfología de las células de la capa epidérmica que se subdivide en: germinativa, intermedia y externa. Además también se realizó una breve descripción de la capa dérmica e hipodérmica. Para ello, utilizando un bisturí esterilizado, se realizaron cortes transversales de la piel de las biopsias abarcando desde la capa epidérmica externa hasta una pequeña porción de la grasa (capa hipodérmica; Figura 3). Aunado a los cortes anteriores, se realizaron algunos cortes horizontales de la superficie de la piel para complementar las descripciones. Los cortes transversales y horizontales se procesaron mediante la técnica de parafina para obtener cortes histológicos los

cuales se tiñeron siguiendo el protocolo de tinción hematoxilina-eosina (H-E; Sheehan y Hrapchak, 1973). De acuerdo con Ham (1974), la utilización de dos tinciones distintas permite obtener un mayor contraste de los distintos componentes celulares, lo cual facilita la identificación y descripción de las células. La hematoxilina (color azul-violeta) tiñe los núcleos y ribosomas, mientras que la eosina (color rosa) tiñe las mitocondrias, proteínas citoplasmáticas y fibras de colágena. Posteriormente, en el Centro de Investigaciones del Noroeste (CIB), se tomaron fotos de los cortes histológicos con un microscopio de luz compuesto de contraste de fases y campo claro (Olympus BX41 con aumento de 4x, 10x, 20x, 40x, 100x) y se realizó la descripción de los mismos de acuerdo con Sokolov (1960), Giacometti (1967), Harrison y Thurley (1974), Ling (1974) y Geraci *et al.* (1986). Finalmente se tomaron las medidas de las distintas capas de la piel utilizando el software Image-Pro Plus versión 5.0.

5.3.4. Separación de la piel de biopsias en capas epidérmicas

Con base en la histológica de la piel se definieron las zonas de los cortes transversales en la piel de biopsias para separar las capas de la epidermis (Figura 3). Esta división se llevo acabo con el fin de determinar la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre las capas epidérmica: germinativa (señal isotópica del alimento más reciente), la capa intermedia y externa (señal isotópica del alimento consumido a mediano y largo plazo), y la piel descamada, que presentaría la señal isotópica del alimento consumido y asimilado aproximadamente 73 días antes, según el estudio de Hicks *et al.* (1985). Los cortes fueron hechos con pinzas y bisturís esterilizados y se obtuvo aproximadamente 2 mm^2 de piel por capa, lo que correspondió a alrededor de 10 mg de tejido húmedo para el análisis de isótopos estables de nitrógeno y carbono.

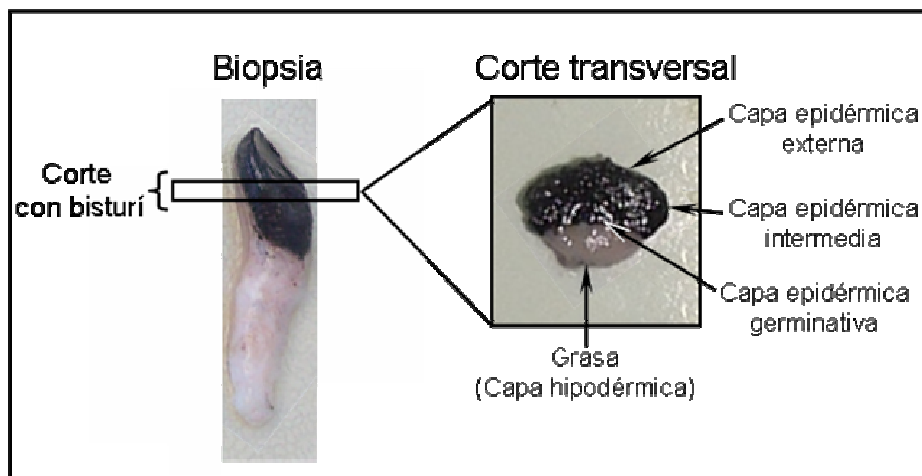


Figura 3. Cortes transversales de la piel y grasa obtenida de biopsias.

5.3.5. Análisis de isótopos estables de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$)

El análisis de isótopos estables de nitrógeno y carbono consistió de dos partes: la preparación de muestras y la determinación analítica. La primera parte se realizó en el Laboratorio de Química Marina del departamento de Oceanología de CICIMAR. En el proceso se lavaron las muestras de piel, heces fecales y eufáusidos con agua destilada con el fin de eliminar las sales. Después se colocaron en viales estériles de 4 ml y se deshidrataron utilizando el método de liofilización, que consiste en dejar las muestras durante 24 horas dentro de un liofilizador con una temperatura de entre -40°C y -50°C y a un vacío de 50×10^3 mbares. Después se eliminaron los lípidos aplicando la técnica de Extracción Asistida por Microondas (MAE) con una solución de cloroformo: metanol (1:1) y mediante el uso de un horno de microondas MARS-5 Equipos Falcon (Thermo Instruments). Los lípidos son extraídos para minimizar la introducción de artificios causados por el ^{12}C propio de los ácidos grasos, que en el caso de no eliminarse, podría sesgar el resultado del $\delta^{13}\text{C}$ hacia valores considerablemente más negativos o más altos (Paré *et al.*, 1994). Una vez eliminados los lípidos se procedió a homogenizar las muestras. Cada muestra se colocó por separado dentro de un vial con 1 ml de solución de cloroformo: metanol (1:1) y se homogenizó con la ayuda de un homogenizador marca Kinematica Polytron PT 2100 (con una velocidad de 11,000 a 30,000 revoluciones por minuto). Una vez

homogeneizadas las muestras, se procedió a eliminar los restos de solvente evaporando en un desecador, el cual es una caja de madera con una serie de focos de 100W, que mantuvieron una temperatura máxima constante de 60°C. Una vez que se evaporó el solvente se obtuvo un polvo fino. Este último se introdujo en capsulas de estaño y fue pesado en una balanza analítica (con una precisión de ± 0.001 g), hasta obtener 1.5 mg de la muestra y se cerraron con la ayuda de pinzas esterilizadas.

Las muestras fueron enviadas al Departamento de Ciencias Botánicas de la Universidad de California en Davis (UCD), dentro de una bandeja porta-capsulas especializada para su transporte, en donde se llevo acabo la segunda parte del análisis de isótopos estables de nitrógeno y carbono. Las muestras se analizaron en un espectrómetro de masas de razones isotópicas IRMS Dual-Inlet VG Optima con interfase de flujo continuo y un analizador de Na-1500, Carlo Erba (con una precisión de $\pm 0.02\%$). Los estándares que se utilizaron en la calibración de este espectrómetro se obtuvieron del National Institute of Standards and Technology (NIST), y fueron N₂ (99.99%) con un $\delta^{15}\text{N}$ (‰) con referencia al nitrógeno atmosférico = -0.21 y CO₂ (99.8%) con un $\delta^{13}\text{C}$ (‰) con referencia al estándar internacional de la calcita fósil denominada Pee Dee Belemnite (PDB) = -43.85 (Boutton, 1991). Las diferencias relativas de las razones isotópicas estables entre las muestras y los estándares se expresaron como δ (Delta). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ se obtuvieron a partir de las razones medidas en la muestra y la de los elementos estándares usando la expresión:

$$\delta^{15}\text{N} \text{ ó } \delta^{13}\text{C} = [(\text{R muestra} / \text{R estándar}) - 1] \times 1000$$

Donde R muestra y R estándar son las razones de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ o $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de la muestra y el estándar, respectivamente (Boutton, 1991; Unkovich *et al.*, 2001). Un valor positivo o alto de δ indica que la muestra presenta más isótopos pesados que el estándar, mientras que un valor negativo o bajo de δ indica que la muestra presenta menos isótopos pesados que el estándar (Unkovich *et al.*, 2001).

5.4. Análisis de los datos

Una vez obtenido el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de todas las muestras, se verificó si éstos valores se ajustaban a una distribución normal, mediante la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0.02$), y si presentaban homogeneidad de varianzas (prueba de Bartlett: $p > 0.05$), para así determinar si era posible utilizar estadística paramétrica. En todos los casos en los que se aplicó el análisis estadísticos se manejó por separado el $\delta^{15}\text{N}$ del $\delta^{13}\text{C}$, ya que cada uno presenta distintas escalas e implicaciones ecológicas. Los análisis se enfocaron en abordar las posibles fuentes de variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, de la piel de ballena azul, con el fin de determinar cuales tenían una relativamente mayor influencia relevante en los mismos. A continuación se enlistan y explican los análisis comparativos para cada fuente de variabilidad considerada en el presente estudio:

5.4.1. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul por preservación en dimetil sulfóxido *versus* congelado (control)

Con el fin de definir si era eficiente utilizar muestras preservadas en DMSO, se verificó si el método de preservación afectaba el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las muestras de piel descamada en comparación con la piel congelada (a -70°C). Para ello, se aplicó una prueba de *t-student* para la diferencia de medias entre muestras pareadas, en la que se utilizó el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ obtenido para la piel preservada en DMSO y la piel congelada (control).

5.4.2. Variabilidad entre el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las capas epidérmicas de la piel de ballena azul

Para determinar si existían diferencias significativas entre las capas epidérmicas (germinativa, intermedia, externa y piel descamada), se aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía en donde únicamente se compararon los $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de estas capas, sin tomar en cuenta ningún otro factor (e.g. mes de colecta, sexo, etc.). Posteriormente se utilizó la prueba de diferencias verdaderamente significativas

(DVS) de Tukey para valorar las diferencias significativas entre pares individuales de medias.

5.4.3. Variabilidad individual (en la piel de un mismo animal) en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul

La variabilidad individual, entre el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las capas epidérmicas de un mismo individuo, se debe abordar en cualquier estudio de isótopos estables aplicado a organismos de vida libre (Unkovich *et al.*, 2001); es por ello que se evaluó la magnitud de la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de cada individuo de ballena azul. Se calculó las medias y sus desviaciones estándar respectivas, del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, de las capas epidérmicas de la piel (germinativa, intermedia, externa y piel descamada), de cada individuo por separado (*e.g.* Tabla I). Considerando que la desviación estándar era la medida que mejor representaba la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo de las capas epidérmicas de cada individuo, se realizaron histogramas de frecuencia de las unidades de desviación estándar obtenidas.

La variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre las capas de la piel de ballena azul a nivel individual fue relativamente baja (Resultados, Figura 13), por lo cual los análisis posteriores fueron realizados con el promedio del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las capas epidérmicas (capa germinativa, intermedia, externa y piel descamada) de cada individuo.

Posteriormente para evaluar la variabilidad individual en función del tiempo, o en el transcurso de días, semanas o meses, se detectó como variaba el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel (promedio de las capas epidérmicas) de únicamente los individuos foto-recapturados dentro de la misma temporada (enero-abril), en el Golfo de California. No fue posible aplicar ningún análisis estadístico debido al reducido número de individuos foto-recapturados ($n=11$), sin embargo se monitorio el cambio de la señal isotópica en la piel de estos individuos (ver Resultados, Tabla III).

Tabla I. Ejemplo de cómo se evaluó la variabilidad individual del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre las capas epidérmicas de cada individuo: Número de identificación de cada ballena en el catalogo de fotos de CICIMAR, valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ para cada una de las capas epidérmicas del individuo, medias y sus desviaciones estándar respectivas.

Ballena en el catalogo	Delta (δ)	Capas epidérmicas				Media	Desviación estándar
		Germinativa	Intermedia	Externa	Piel descamada		
0012	$\delta^{15}\text{N}$	15.09	15.23	15.32	14.6	15.06	0.3
	$\delta^{13}\text{C}$	-16.88	-17.23	-17.14	-17.30	-17.14	0.2
0501	$\delta^{15}\text{N}$	16.08	16.30	16.51	15.27	16.04	0.5
	$\delta^{13}\text{C}$	-17.00	-17.11	-16.85	-17.64	-17.15	0.3
0175	$\delta^{15}\text{N}$	15.51	15.16	15.16	14.16	15.00	0.6
	$\delta^{13}\text{C}$	-17.60	-17.69	-17.61	-17.92	-17.70	0.1
0502	$\delta^{15}\text{N}$	15.20	15.50	14.97	14.27	14.98	0.5
	$\delta^{13}\text{C}$	-16.72	-16.45	-16.21	-16.36	-16.43	0.2

5.4.4. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul entre sexos y clases de edad

Otra de las potenciales fuentes de variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ consideradas en este estudio fue el sexo y las clases de edad, ya que en otros estudios se han encontrado diferencias en la distribución espacial, alimentación (Del Ángel-Rodríguez, 1997; Gendron, 2002; Mejía-Acosta, 2003) e inclusive en la concentración relativa de distintos ácidos grasos entre estas categorías (Rueda-Flores, 2007). En el caso de la variabilidad por sexos se aplicó una prueba de *t-student* para la diferencia de medias de dos grupos, en la cual se compararon las hembras vs. los machos. Por otro lado, las clases de edad en las que se agruparon las ballenas fueron crías, juveniles y adultos. Los juveniles son los individuos que se han foto-identificado desde que eran crías y tienen < 5 años de edad, mientras que los adultos son aquellos individuos que han sido foto-identificados por más de cinco años (Gendron, 2002). El análisis que se usó para comparar estas tres clases de edad fue un ANDEVA de una vía. Posteriormente se aplicó una *prueba de t-student para la diferencia de medias de dos grupos* evaluando únicamente el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las crías en contraste con las madres. Esto se realizó para comprobar si las crías de ballena azul presentaban un nivel trófico relativo mayor que las hembras lactantes, como se ha demostrado en otros mamíferos (Fogel *et al.*, 1989; Hobson y Sease, 1998; Jenkins *et al.*, 2001).

5.4.5. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul entre diferentes regiones y zonas del Golfo de California

La oceanografía del Golfo de California es sumamente compleja (Lavín y Marinone, 2003) y a lo largo del mismo existen diferencias hidrográficas y topográficas que han propiciado que varios investigadores propongan regionalizarlo de distintas formas (Roden y Grooves, 1959; Roden, 1964; Álvarez-Borrego y Schwartzlose, 1979; Álvarez-Borrego, 1983; Schrader y Baumgartner, 1983; Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). En este estudio se evaluó la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de las ballenas azules muestreadas en la región norte (29 a 31°N y -113 a -110.5°O) *versus* la región sur (29 a 23°N y -112 a -108°O) del Golfo de California, así como la de las ballenas en las zonas costeras (ballenas localizadas a menos de 50 km de la costa) *versus* oceánicas (ballenas localizadas a más de 50 km de la costa), utilizando una prueba de *t-student* para la diferencia de medias de dos grupos.

5.4.6. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul a lo largo de los meses

Las muestras de piel se colectaron entre enero-abril, durante la cual la ballena azul está presente en el Golfo de California. Adicionalmente se obtuvieron muestras de piel en la costa occidental del estado de Baja California en el mes de octubre, cuando las ballenas están cerca de iniciar su migración hacia el sur. La señal isotópica de las muestras colectadas en octubre, son representativa de las costas de California, debido a que los procesos oceanográficos en la costa occidental del estado de Baja California similares a los de las costas de California (Altabet, 1999). Para comparar entre estas áreas se llevó a cabo una ANDEVA de una vía utilizando los meses de enero a octubre, tomando en cuenta el cambio de área de alimentación del Golfo de California a la costa occidental de Baja California. Se utilizaron los datos de los meses correspondientes a los años 2005, 2006 y 2007 en conjunto, luego de demostrar que no había diferencias interanuales significativas en el $\delta^{15}\text{N}$ ($p = 0.2$) y $\delta^{13}\text{C}$ ($p = 0.2$), de la piel de ballenas entre estos años, mediante un ANDEVA de una vía.

5.4.7. Variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el eufáusido *N. simplex* dentro del Golfo de California

Una de las fuentes de variabilidad esencial del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de ballena azul proviene de su presa, debido a que el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ presentes en los tejidos del consumidor son el resultado de la asimilación de su alimento (Boutton, 1991; Hobson, 1999; Walker *et al.*, 1999; Unkovich *et al.*, 2001; Vander Zanden y Rasmussen, 2001; O'Reilly *et al.*, 2002). Por lo cual se determinó cual era la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de *Nyctiphanes simplex*, la presa principal de la ballena azul en el Golfo de California (Del Ángel Rodríguez, 1997; Mejía-Acosta 2003). Dado que las muestras de eufáusidos del año 2005 solo se obtuvieron en la región sur del Golfo de California y por el contrario las muestras del año 2006 provienen en su mayoría de la región norte del Golfo de California, en lugar de hacer una comparación entre años de muestreo, se comparó únicamente las muestras de eufáusidos de la región norte vs. las muestras de la región sur del Golfo de California mediante una prueba de *t-student* para la diferencia de medias de dos grupos.

5.4.8. Variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en heces fecales de ballena azul

Finalmente, las señales isotópicas en heces fecales también se tomaron en cuenta en este estudio, no obstante, esta información únicamente se utilizó como información complementaria del alimento de las ballenas azules, ya que se sabe que estas pueden dar información directa del alimento consumido recientemente (Unkovich *et al.*, 2001; Codron *et al.*, 2005). Se utilizó el promedio del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ detectados en las heces fecales colectadas en distintos años (2002 y 2007) en conjunto.

6. RESULTADOS

En el Golfo de California se seleccionaron 191 muestras de piel pertenecientes a 95 distintas ballenas azules, de las cuales 98 eran piel descamada, 82 de piel de biopsias y 11 de heces fecales de ballena azul (Figura 4 y 5). Asimismo, también se obtuvieron 9 muestras de piel descamada de 9 ballenas en la costa occidental del estado de Baja California (Figura 4). Por otro lado, se identificaron 16 muestras con el eufáusido *N. simplex*, colectadas dentro del Golfo de California (Figura 5). Las muestras de piel, heces fecales y eufáusidos seleccionadas se relacionan en los Anexo I, II y III. La variabilidad total, en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ detectados en las muestras de piel, heces fecales y eufáusidos en este estudio, así como la frecuencia de estos valores (sin tomar en consideración ninguna de las fuente variabilidad evaluadas) se muestran en la figura 6.

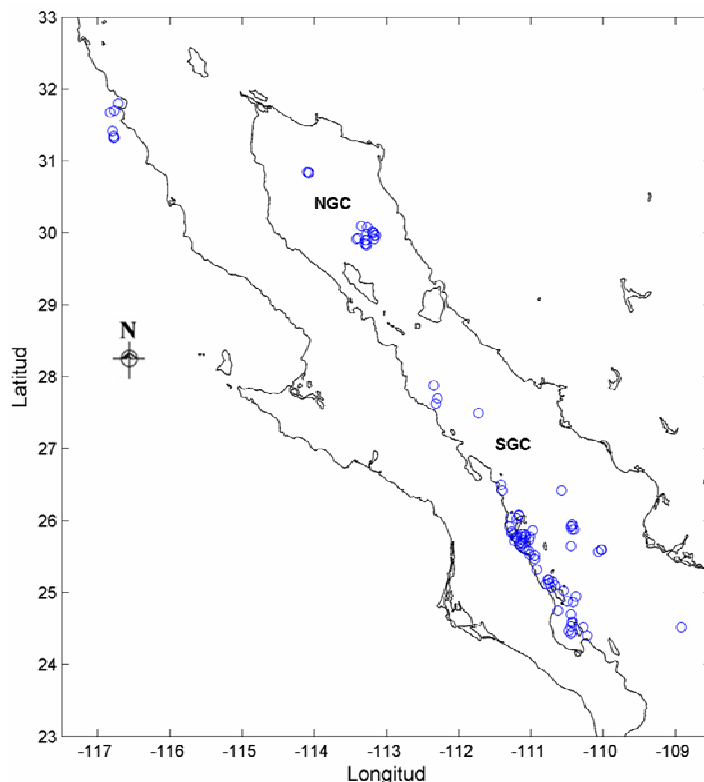


Figura 4. Sitios de muestreo de piel descamada y obtenida de biopsias (○) de ballena azul en el Golfo de California (región norte NGC; región sur SGC) y en la costa occidental de Baja California.

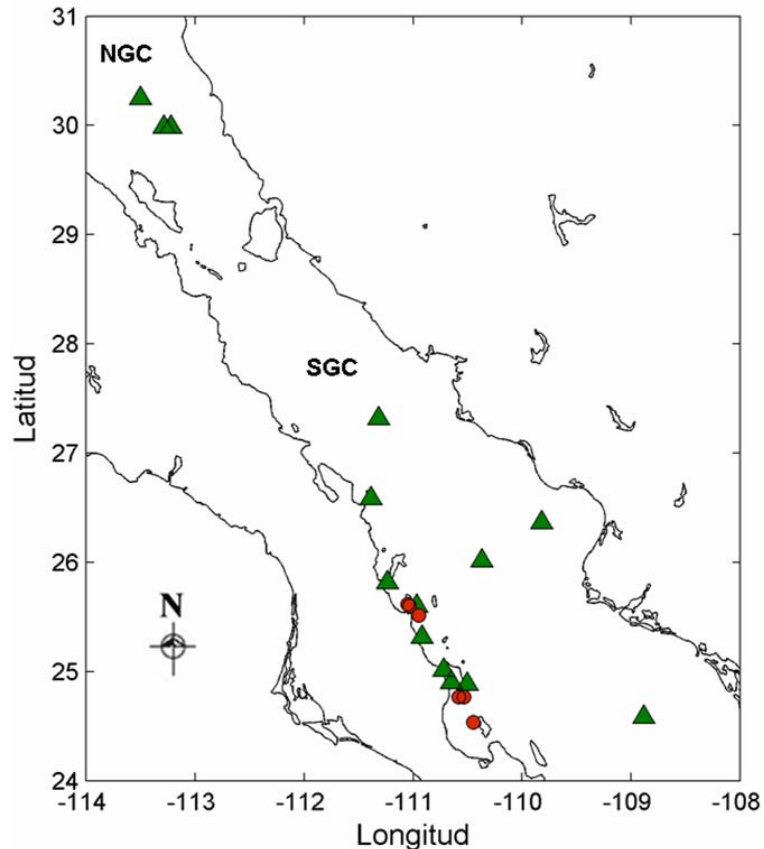


Figura 5. Sitios de muestreo de eufáusidos (▲) de la especie *N. simplex* y heces fecales (●) a lo largo del Golfo de California (región norte NGC; región sur SGC).

6.1. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul por preservación en dimetil sulfóxido versus congelado (control)

Se obtuvieron 23 muestras de piel descamada de diferentes individuos (Anexo IV y V), en los años 2005 y 2006, preservadas tanto en DMSO como por congelado (control). Las muestras estuvieron preservadas por un lapso de seis a ocho meses. La prueba estadística aplicada (prueba de *t-student* para la diferencia de medias entre muestras pareadas) no mostró diferencias significativas entre el $\delta^{15}\text{N}$ ($t=0.04$; $p=0.96$) y el $\delta^{13}\text{C}$ ($t=0.13$; $p=0.89$) de la piel descamada preservada en ambos métodos. Las medias (\pm la desviación estándar; D.E.) de la piel preservada en DMSO fueron 14 ± 1 ($\delta^{15}\text{N}$) y -16.8 ± 0.6 ($\delta^{13}\text{C}$), mientras que las de la piel congelada fueron 14 ± 1 ($\delta^{15}\text{N}$) y -16.8 ± 0.7 ($\delta^{13}\text{C}$). Sin embargo, dos muestras de piel preservada en

DMSO (-15.77 y -18.07) exhibieron diferencias conspicuas de 0.9 y 1‰, en el $\delta^{13}\text{C}$, con respecto a las muestras de piel congeladas (-16.63 y -16.87). Aún así, esto no modificó los resultados del análisis estadístico, por lo que se concluye que la preservación en DMSO no afecta significativamente los resultados de isótopos estables en piel de ballena azul, en relación a las muestras de piel congelada (a -70°C), por lo menos en muestras de piel descamada preservadas en un periodo no mayor a ocho meses.

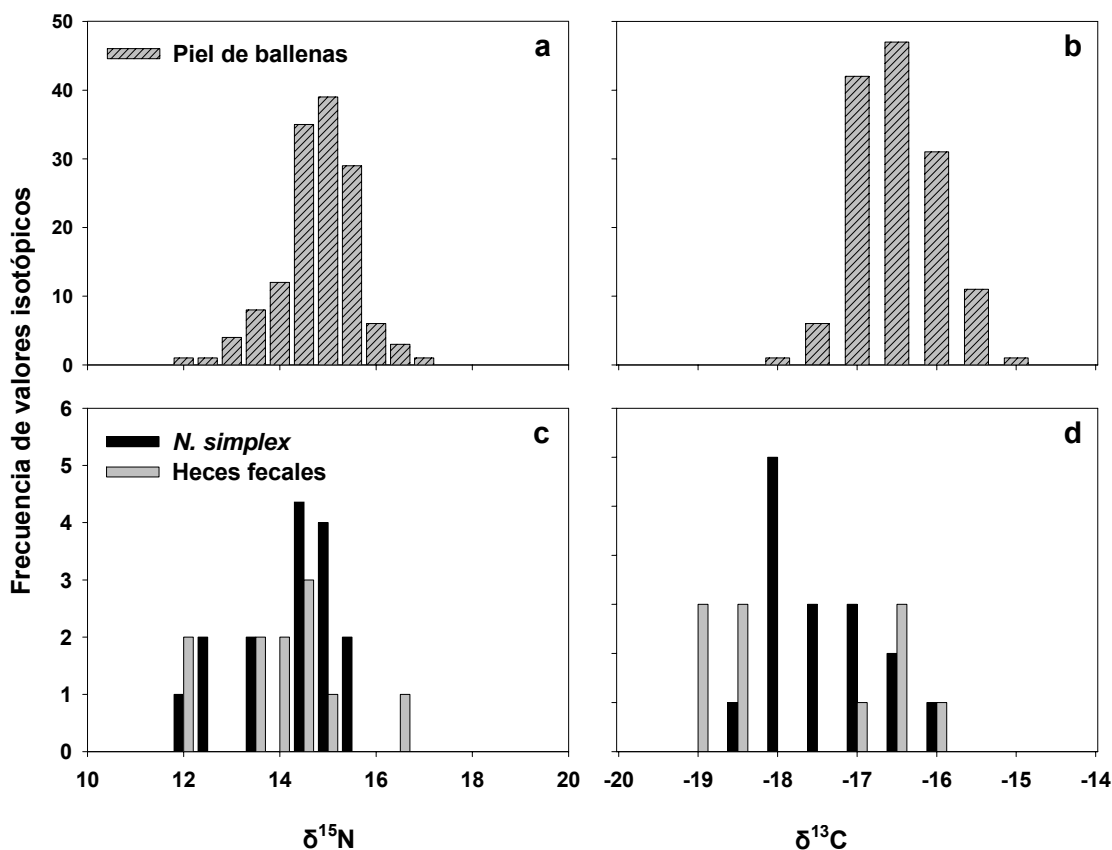


Figura 6. Variabilidad total y frecuencia de los valores isotópicos detectados en muestras de piel de ballenas azules (a. $\delta^{15}\text{N}$ y b. $\delta^{13}\text{C}$), en heces fecales y en eufáusidos de la especie *N. simplex* (c. $\delta^{15}\text{N}$ y d. $\delta^{13}\text{C}$).

6.2. Histología de la piel y grasa obtenida de biopsias

En los cortes histológicos de las biopsias de ballena azul fue posible distinguir la capa hipodérmica, dérmica y epidérmica (Figura 7). La porción de la capa

hipodérmica (Figura 8a), que constituye la grasa o tejido subcutáneo, se caracterizó por presentar una trama de tejido conectivo laxo que presentaba fibras (posiblemente de colágeno o elásticas) y adipositos (células grasas). La capa dérmica (Figura 7) se subdividió en dos capas: la capa reticular formada por tejido conectivo denso dispuesto de forma irregular y por haces de fibras (probablemente de colágena) que se entrelazaban a modo de trama hasta llegar a combinarse con la hipodermis y la capa papilar, conformada por una serie de papilas dérmicas de tejido conjuntivo laxo de forma ovalada con un diámetro promedio de 0.2 mm las cuales son separadas entre si por 0.14 o 0.18 mm (Figura 8b). Estas papilas se extienden hacia arriba hasta penetrar aproximadamente 1.4 mm de la epidermis (Figura 7). La capa epidérmica (Figura 7) presentó un grosor de aproximadamente 2.5 a 3.5 mm. En esta capa fue posible observar la red de crestas o prolongaciones de la epidermis que se situaban entre las papilas dérmicas en los cortes histológicos transversales, las cuales son características en cetáceos (Ling, 1974). También se identificaron las distintas capas de células que constituían la epidermis:

1. Capa germinativa (Figura 8c), las células de esta capa se encontraron distribuidas en toda la base de la red de crestas epidérmicas abarcando inclusive todo el borde de las papilas dérmicas. El grosor de esta capa variaba, en la parte inferior de la red de crestas epidérmicas, media alrededor de 0.6 mm y a lo largo de las papilas dérmicas aproximadamente 0.3 mm. Se identificaron células epiteliales altas cilíndricas (columnares) con núcleos ovalados conspicuos teñidos color azul-violeta y la mayoría de estas presentaban en su citoplasma (teñido color rosa) una gran cantidad de gránulos de melanina dispersos de color negro y amarillo-pardo.
2. Capa intermedia (Figura 7), esta capa de células estaba por encima de la capa germinativa y su grosor oscilaba entre 1 y 2.3 mm debido a presencia de la red de crestas epidérmicas y a las papilas dérmicas. Las células de esta capa son epiteliales ovaladas (Figura 8e) en las primeras capas cercanas a la capa germinativa. Fue evidente que los gránulos de melanina se agregaban por encima del núcleo, orientados en la parte superior de las células y aunque el núcleo aun estaba presente en algunas células ya no era posible

observarlo. Las células cercanas a la capa externa son elípticas (Figura 8f), en estas se puede ver los gránulos de melanina pero dispersos a lo largo del citoplasma y los núcleos de estas células ya no se apreciaban.

3. Capa externa (Figura 8d), el grosor de esta capa varió entre los 0.4 y 0.5 mm y las células aplanadas formaron hileras, su citoplasma reducido, el núcleo no es visible y la membrana celular es más gruesa. Aún habían gránulos de melanina pero en mucha menor cantidad que en la capa germinativa e intermedia.

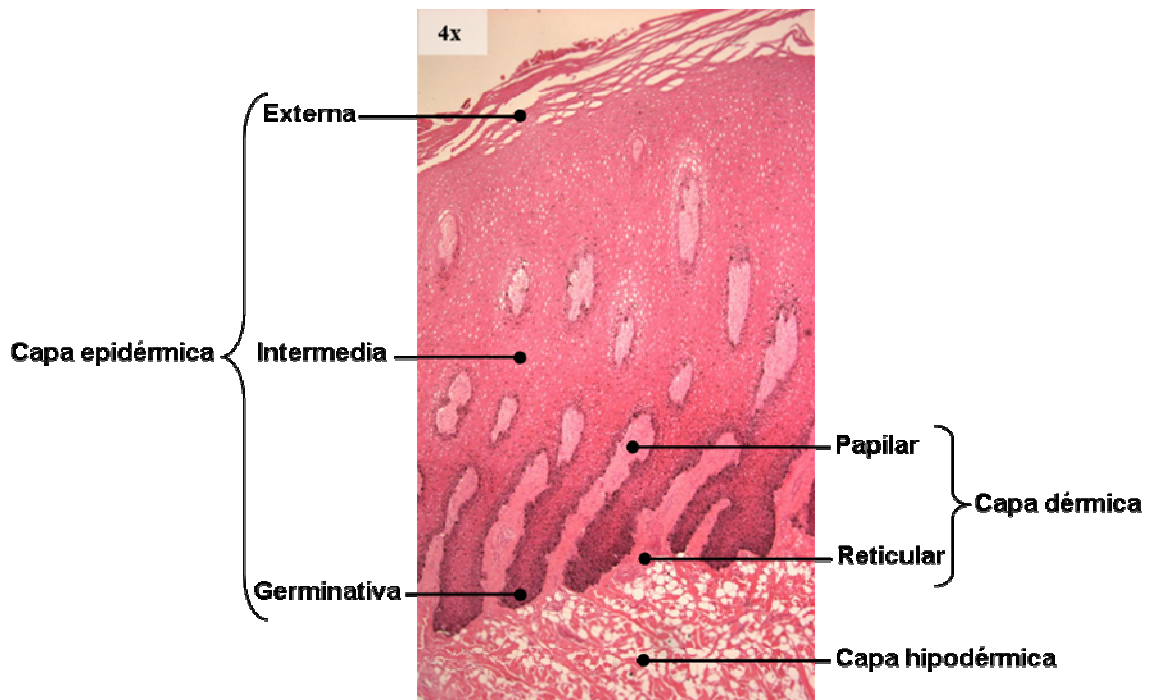


Figura 7. Corte histológico transversal de una biopsia de ballena azul en donde se observan las capas que conforman la piel (capa dérmica y epidérmica) y la grasa o tejido subcutáneo (capa hipodérmica).

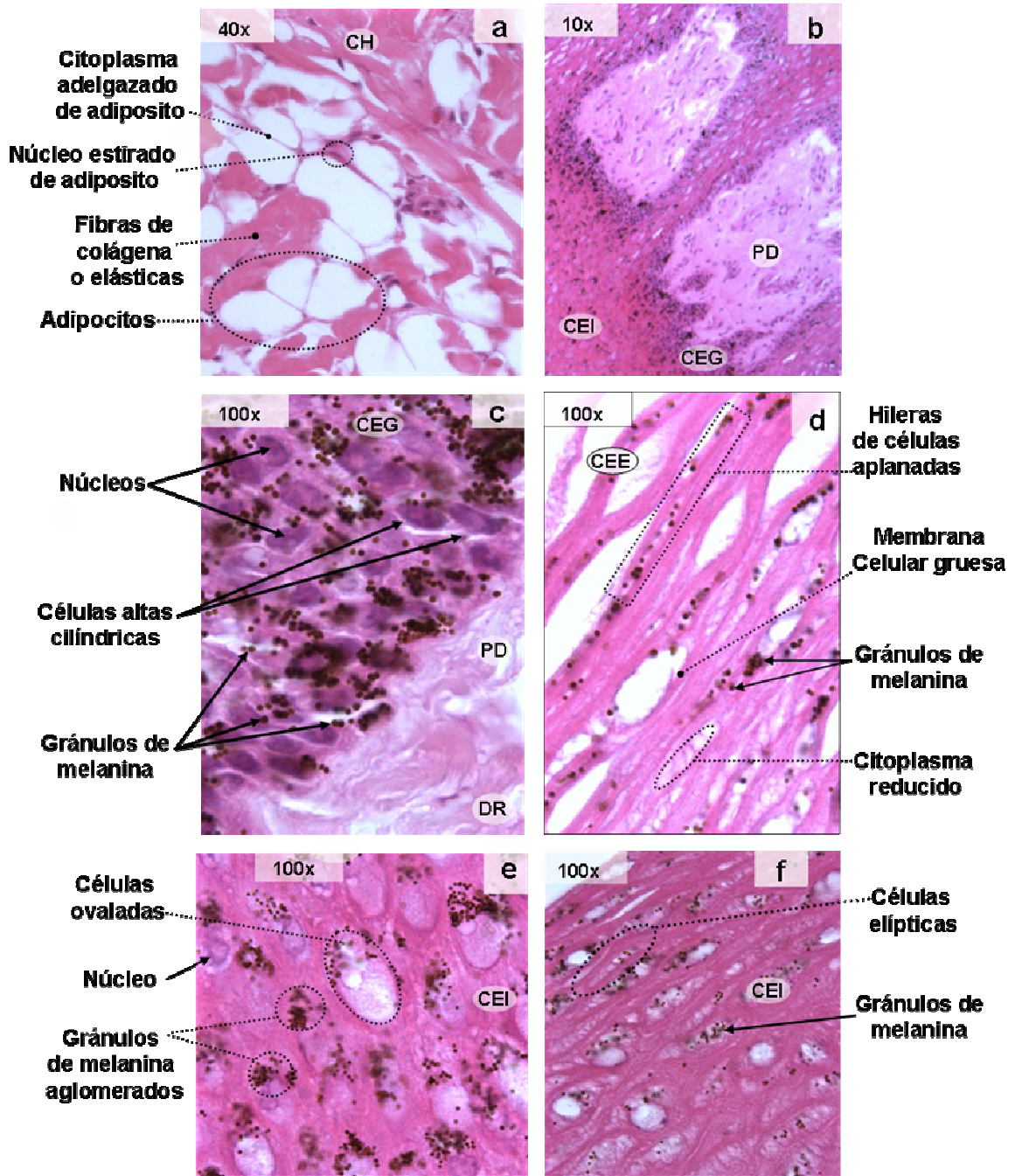


Figura 8. Cortes histológicos de grasa y piel obtenida de biopsias; **a.** corte transversal de la capa hipodérmica (grasa), **b.** corte horizontal de las papilas dérmicas, **c.** corte transversal de la capa epidérmica germinativa, **d.** corte transversal de la capa epidérmica externa, **e.** y **f.** corte transversal de la capa epidérmica intermedia (CH-capa hipodérmica, PD- papila dérmica, DR-capa dérmica reticular, CEG-capa epidérmica germinativa, CEI-capa epidérmica intermedia, CEE-capa epidérmica externa).

6.3. Variabilidad de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre las distintas capas epidérmicas de la piel de ballena azul

Para separar la epidermis en las tres capas que la conformaban se realizaron dos cortes (Figura 9). El primer corte fue cerca de la capa hipodérmica para obtener una porción de la capa epidérmica germinativa. Sin embargo, debido a que la dermis de la ballena azul presentó la capa dérmica papilar que se introduce en la epidermis inclusive hasta la capa epidérmica intermedia (Figura 7), ambas capas no se pudieron separar por completo. El segundo corte únicamente consistió en separar la capa epidérmica intermedia de la externa lo cual fue relativamente sencillo debido a que esta última capa está por ser descamada, por lo que las uniones celulares a este nivel se debilitan (Geraci *et al.*, 1986) y esto facilitó la separación. Además se contaba también con la capa de la piel descamada, que es la capa epidérmica externa que fue descamada o expulsada al medio (Gendron y Mesnick, 2001).

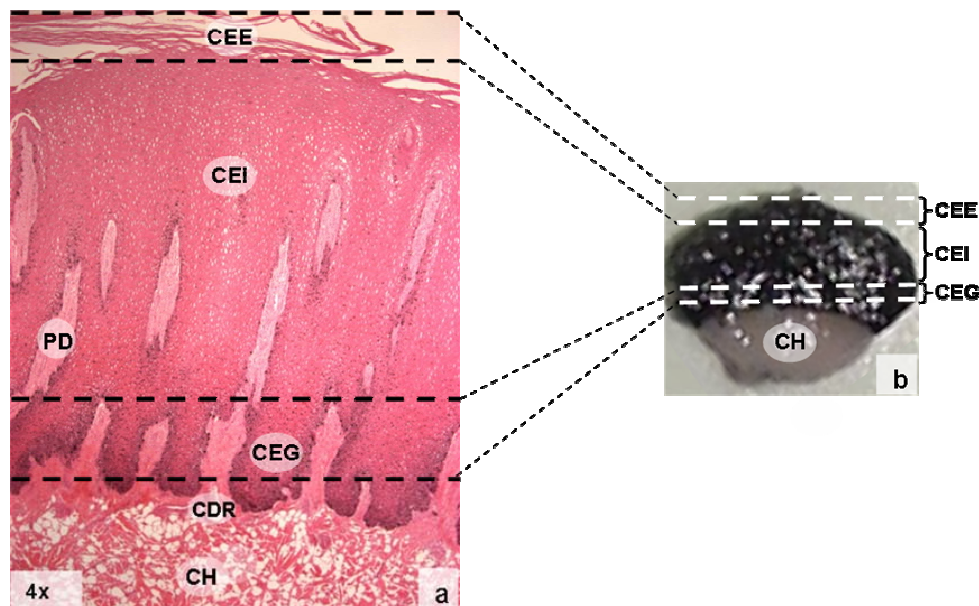


Figura 9. División de la capa epidérmica en sus tres capas: **a.** corte histológico transversal en el que se muestra donde se realizaron los cortes con bisturí. **b.** corte transversal, de piel y grasa de biopsia, en fresco mostrando la separación de piel en tres capas (CH- capa hipodérmica, PD- papila dérmica, CDR- capa dérmica reticular, CEE- capa epidérmica externa, CEI- capa epidérmica intermedia, CEG- capa epidérmica germinativa, - - - - - cortes con bisturí).

Se obtuvieron resultados de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ para 61 muestras de la capa epidérmica germinativa, 36 de intermedia, 57 de externa y 91 de piel descamada. Esta diferencia en el número de muestras fue debido a que: 1. en las salidas de campo no siempre fue posible obtener las biopsias de ballenas de las cuales se colectó piel descamada y viceversa, 2. la capa epidérmica intermedia únicamente fue obtenida en el 2005, ya que las señales isotópicas de esta capa son de transición entre la capa epidérmica germinativa y la externa y 3. en algunas ocasiones no fue posible obtener todas las capas epidérmicas, de la piel de biopsias, durante la separación de las mismas mediante los cortes con bisturí. Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las capas epidérmicas germinativa (media \pm D.E., $\delta^{15}\text{N}=14.7\pm 0.7$; $\delta^{13}\text{C}= -16.6\pm 0.5$), intermedia ($\delta^{15}\text{N}=14.6\pm 0.9$; $\delta^{13}\text{C}= -16.7\pm 0.5$) y externa ($\delta^{15}\text{N}=14.8\pm 0.7$; $\delta^{13}\text{C}= -16.6\pm 0.6$). No obstante la piel descamada presentó un $\delta^{15}\text{N}$ (14.4 ± 0.9) significativamente menor que el de la capa epidérmica externa ($F=3.43$; $p = 0.018$; Figura 10; Tabla IIA) y un $\delta^{13}\text{C}$ (-16.9 ± 0.6) significativamente menor (o más negativo) que el de la capa epidérmica germinativa ($F=3.9$; $p = 0.009$; Figura 10; Tabla IIB).

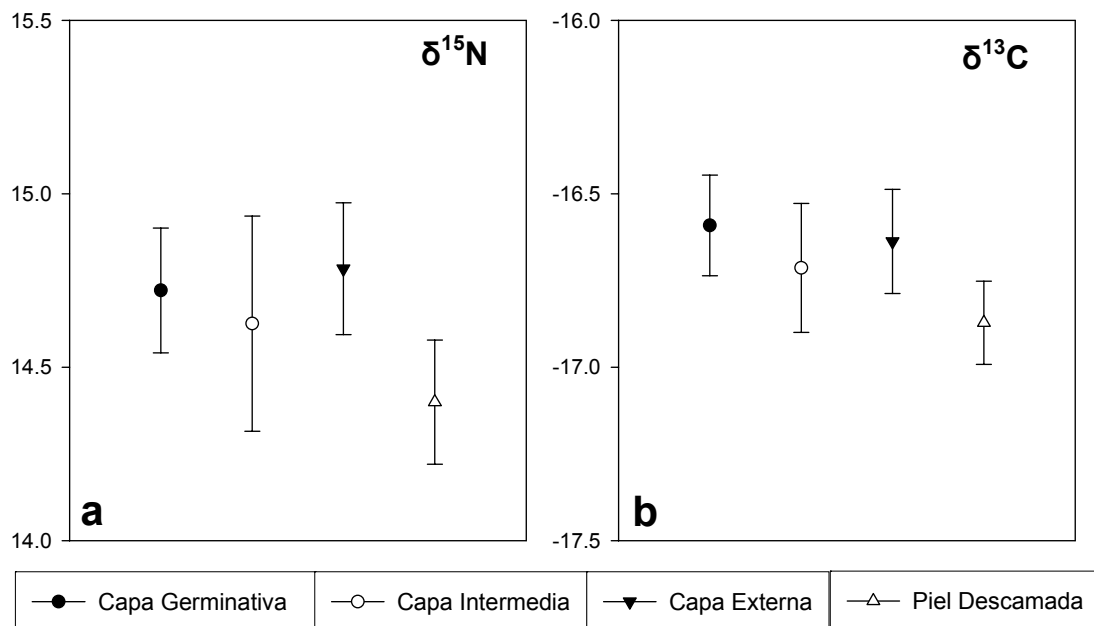


Figura 10. Valores de **a.** $\delta^{15}\text{N}$ (promedio \pm error estándar) y **b.** $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm error estándar) medidos en las diferentes capas epidérmicas de la piel ballena azul.

Tabla II. Diferencias entre: **A.** el $\delta^{15}\text{N}$ y **B.** el $\delta^{13}\text{C}$, de las capas epidérmicas, mediante la Prueba de diferencias significativas de Tukey.

DVS-Tukey					
A.	$\delta^{15}\text{N}$	1 (14.7)	2 (14.6)	3 (14.8)	4 (14.4)
	Capa germinativa		0.96	0.97	0.12
	Capa intermedia	0.96		0.83	0.62
	Capa externa	0.97	0.83		0.049
	Piel descamada	0.12	0.62	0.049	
B.	$\delta^{13}\text{C}$	1 (-16.6)	2 (-16.7)	3 (-16.6)	4 (-16.9)
	Capa germinativa		0.78	0.97	0.02
	Capa intermedia	0.78		0.93	0.61
	Capa externa	0.97	0.93		0.10
	Piel descamada	0.02	0.61	0.10	

Números negros y subrayados = diferencias significativas
 Números entre paréntesis () = media de cada capa epidérmica

La distribución de frecuencias del $\delta^{15}\text{N}$ de las capas epidérmicas germinativa, intermedia y externa presentaron en general $\delta^{15}\text{N}$ más altos (13.5 a 16.79‰) que los de la piel descamada (11.45 a 16.13‰). Es importante resaltar que en las primeras tres capas no se obtuvieron $\delta^{15}\text{N}$ menores a 13.5‰, mientras que la piel descamada presentó prácticamente todo el intervalo de $\delta^{15}\text{N}$, exceptuando el valor máximo (e.g. 16.79‰; Figura 11). Los intervalos de clase de $\delta^{15}\text{N}$ más frecuentes para todas las capas, fueron de 14 a 16‰. En el caso del $\delta^{13}\text{C}$, la distribución de frecuencia de los valores fue similar en todas las capas epidérmicas (-18.41 a -15.66‰), siendo en todos los casos los valores más frecuentes los del intervalos de clase -17 a -16‰ (Figura 11).

6.4. Variabilidad individual (en la piel de un mismo animal) en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul

Se obtuvieron 93 medias con su desviación estándar, de los $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en las distintas capas de la piel, de 93 individuos de ballenas azules. Más del 90% de los individuos presentaron una desviación estándar menor a 0.4 (Figura 12). Esto último indica que la variabilidad entre capas epidérmicas a nivel individual es relativamente baja (aunque mayor que la precisión del espectrómetro de masas que fue de

$\delta^{15}\text{N} \pm 0.16\text{‰}$ y $\delta^{13}\text{C} \pm 0.06\text{‰}$). Con base en lo anterior, se asume que probablemente a lo largo de todo el cuerpo de la ballena azul las señales isotópicas, del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, en la piel son similares, por lo cual tomar muestras de biopsias en distintas partes del cuerpo de las ballenas azules posiblemente no altera los resultados de este estudio.

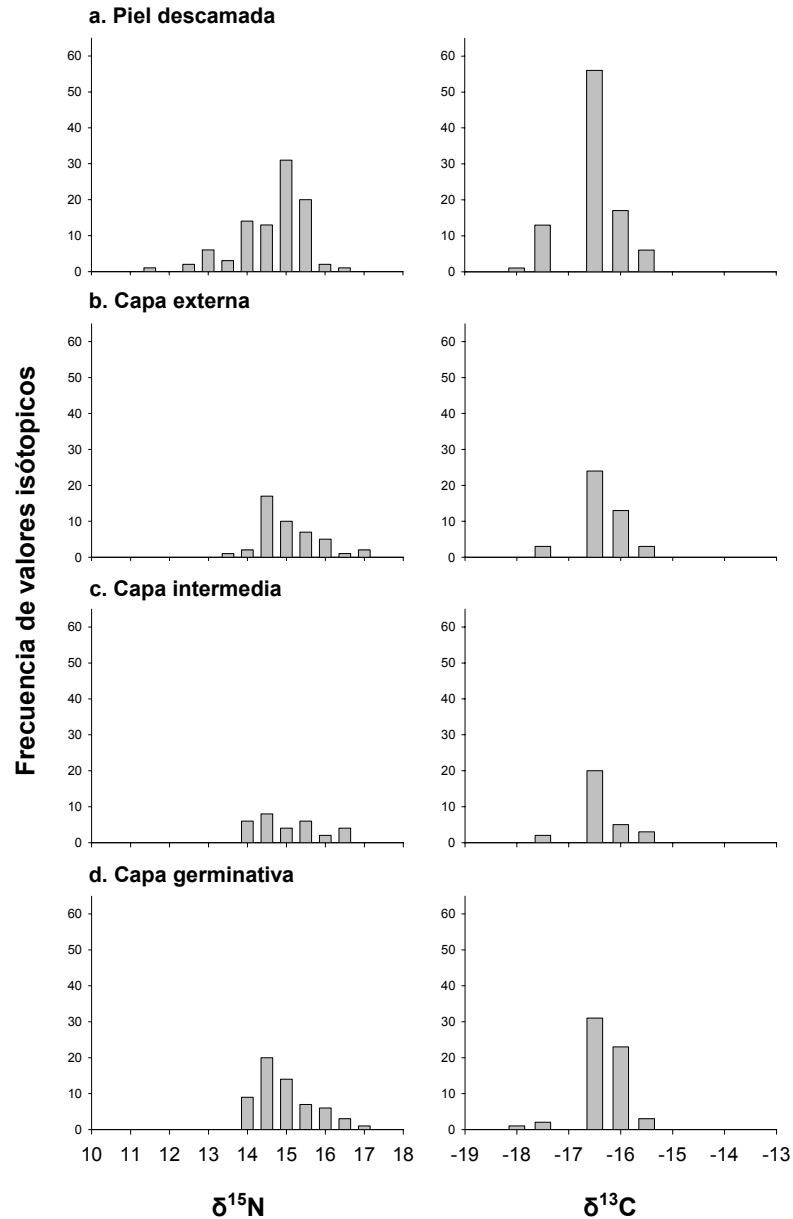


Figura 11. Frecuencia de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ detectados en las distintas capas epidérmicas **a.** piel descamada, **b.** capa externa, **c.** intermedia y **d.** externa, de ballena azul.

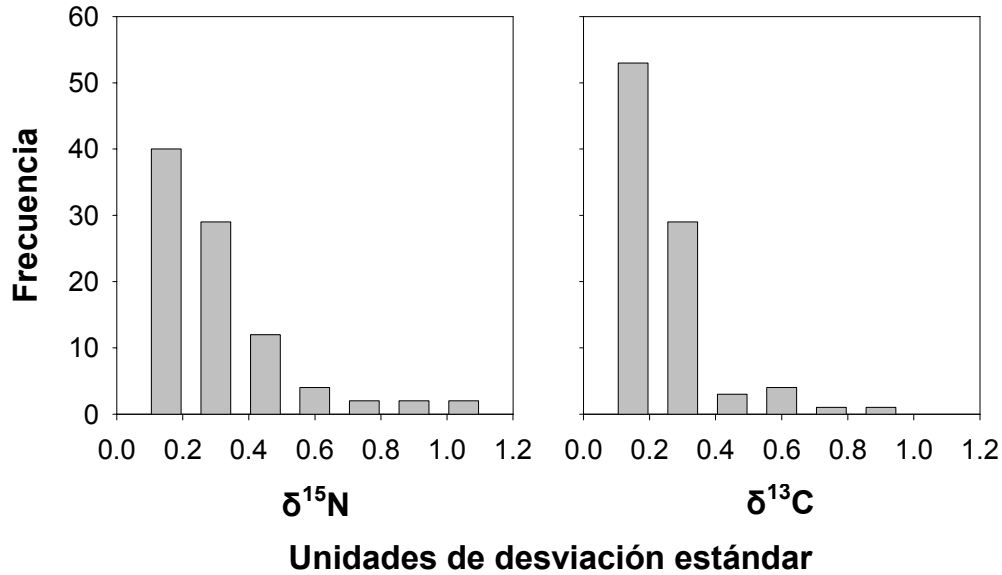


Figura 12. Frecuencias de valores de desviación estándar, de las medias de las capas epidérmicas de diferentes individuos de ballena azul.

En el caso de la variabilidad individual en función del tiempo se colectó piel de 11 ballenas foto-recapturadas a lo largo de las temporadas de 1999, 2002, 2003, 2005 y 2006 (Tabla III). Las diferencias entre el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de los individuos foto-recapturados varió entre 0.01 a 0.5‰ y 0.01 a 0.4‰ respectivamente. Estas diferencias son relativamente mínimas ya que caen dentro del intervalo de variación individual en unidades de desviación estándar (Figura 12). Sin embargo, hubo dos ballenas que presentaron diferencias mayores a 0.5‰, a) la ballena #451, una hembra lactante, que fue muestreada tres veces a lo largo de la temporada. La primera vez fue foto-recapturada a los 19 días y su piel exhibió diferencias de 1.23‰ ($\delta^{15}\text{N}$) y 0.9‰ ($\delta^{13}\text{C}$) con respecto a la piel muestreada la primera vez que fue avistada (Tabla III), y posteriormente fue foto-recapturada otros 19 días después, pero esta vez las diferencias, con respecto a la piel muestreada la segunda vez, fueron menores: 0.5‰ ($\delta^{15}\text{N}$) y 0.02‰ ($\delta^{13}\text{C}$); y b) la ballena #519, que exhibió diferencias de 1.7‰ ($\delta^{15}\text{N}$) y 1.11‰ ($\delta^{13}\text{C}$) entre la piel colectada en un intervalo de 5 días. No obstante, cabe mencionar que la primera muestra de piel únicamente era de piel descamada, mientras que la segunda era de la capa epidérmica germinativa,

debido a que por cuestiones de logística no se pudo obtener resultados para las otras capas de esta ballena.

Tabla III. Ballenas azules foto-recapturadas dentro de una temporada: Número de identificación de cada ballena en el catalogo de fotos de CICIMAR, sexo, clase de edad, fechas de colecta de la piel, número de días transcurridos entre cada muestreo, $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ y diferencias entre muestras de piel colectadas.

Ballena en el catalogo	Sexo	Clase de edad	Día	Mes	Año	Días transcurridos entre cada muestreo	$\delta^{15}\text{N}$	Diferencias	$\delta^{13}\text{C}$	Diferencias
223	Hembra	Adulto	29	1	2006		13.35		-16.21	
			31	1	2006	2	13.72	0.4	-16.60	-0.4
267	Hembra	Juvenil o adulto	25	2	1999		12.88		-16.73	
			27	2	1999	2	13.04	0.16	-16.94	-0.21
131	Hembra	Adulto	6	3	2003		15.21		-16.89	
			10	3	2003	4	14.96	-0.3	-17.05	-0.2
519	Macho	Juvenil o adulto	13	3	2005		12.43		-15.821	
			18	3	2005	5	14.13	1.70	-16.93	-1.11
391	Hembra	Juvenil o adulto	8	3	2002		14.51		-15.57	
			14	3	2002	6	14.67	0.16	-15.58	0.01
445	Macho	Juvenil o adulto	27	3	2003		16.00		-16.20	
			12	3	2003	15	15.49	0.5	-16.43	0.2
425		Cría	27	3	2003		15.67		-16.92	
			4	3	2003	22	15.27	0.4	-17.32	0.4
282	Hembra	Adulto	24	3	1999		13.50		-17.26	
			16	4	1999	23	13.93	0.4	-17.16	0.1
60	Macho	Adulto	24	2	2006		14.56		-16.53	
			18	3	2006	24	14.62	0.1	-16.76	-0.2
451	Hembra lactante	Adulto	1	2	2006		13.61		-18.07	
			20	2	2006	19	14.84	1.23	-17.20	0.9
			9	3	2006	38	14.31	-0.5	-17.22	-0.02
127	Hembra	Adulto	31	1	2006		14.52		-17.29	
			9	2	2006	9	14.45	-0.1	-17.40	-0.1
			9	3	2006	39	14.52	0.1	-17.57	-0.2

6.5. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul entre sexos y clases de edad

El número de muestras de piel de ballenas de las cuales se obtuvo el sexo, fue de 55 hembras y 32 machos. No se encontró diferencias significativas entre sexos en el

$\delta^{15}\text{N}$ ($t=0.4$; $p=0.66$); con una media (\pm D.E.) de $14.6\pm 0.7\text{‰}$ para machos y $14.5\pm 0.7\text{‰}$ para las hembras (Figura 13). En contraste, se encontró diferencias significativa en el $\delta^{13}\text{C}$ ($t=2.28$; $p = 0.024$), los machos exhibieron un $\delta^{13}\text{C}$ más alto ($-16.6\pm 0.4\text{‰}$) que las hembras ($-16.8\pm 0.6\text{‰}$).

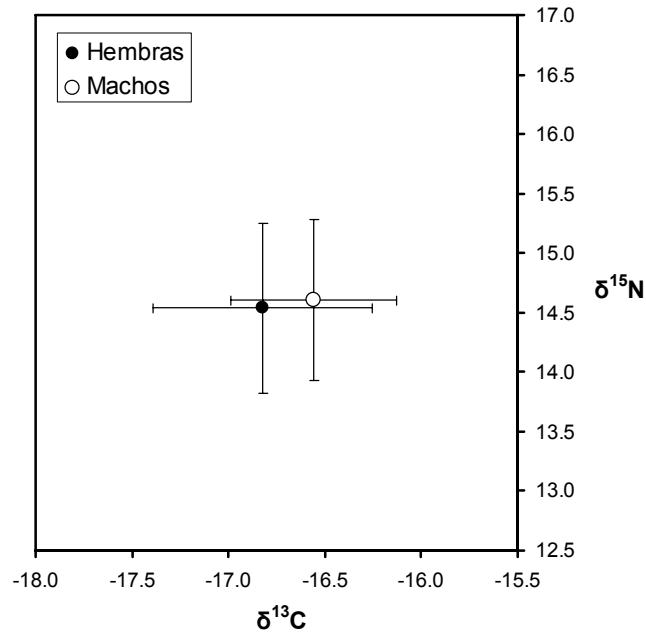


Figura 13. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en piel de ballenas azules hembras y machos.

El análisis por clase de edad se realizó con 9 crías, 5 juveniles y 23 adultos. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas tanto en el $\delta^{15}\text{N}$ ($F=1.9$; $p=0.13$) como en el $\delta^{13}\text{C}$ ($F=0.22$; $p=0.75$) de las tres clases de edad (Figura 14), crías (media \pm D.E., $\delta^{15}\text{N}=15.07\pm 0.6$; $\delta^{13}\text{C}= -16.7\pm 0.7$), juveniles ($\delta^{15}\text{N}=14.7\pm 0.7$; $\delta^{13}\text{C}= -16.8\pm 0.7$) y adultos ($\delta^{15}\text{N}=14.6\pm 0.6$; $\delta^{13}\text{C}= -16.9\pm 0.5$). No obstante la prueba aplicada para las 9 crías y 14 hembras lactantes, mostró diferencias significativas en $\delta^{15}\text{N}$ ($t=2.11$; $p=0.04$), con las crías exhibiendo valores más altos ($15\pm 0.6\text{‰}$) que las hembras lactantes (14.56 ± 0.6); mientras que no hubo diferencias en el $\delta^{13}\text{C}$ ($t=0.62$; $p = 0.5$) y las medias (\pm D.E.) fueron de -16.7 ± 0.7 , en crías, y -16 ± 0.6 en hembras lactantes (Figura 14).

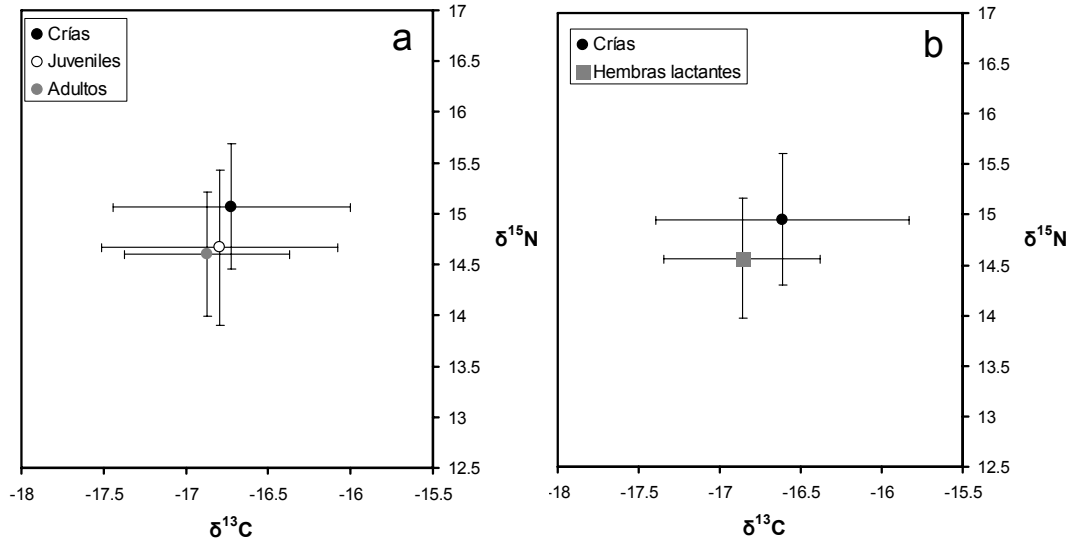


Figura 14. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en piel de ballenas azules: **a.** por clases de edad y **b.** entre crías y hembras lactantes.

6.6. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul entre diferentes regiones y zonas del Golfo de California

En la región sur del Golfo de California se obtuvieron 72 muestras de piel, mientras que en la región norte fueron 28. Se encontraron diferencias significativas tanto en el $\delta^{15}\text{N}$ ($t=3.4$; $p=0.0007$) como en el $\delta^{13}\text{C}$ ($t=-2.24$; $p=0.02$), siendo la región sur la que presentó los valores significativamente más altos de $\delta^{15}\text{N}$ (media \pm D.E., $14.76\pm 0.7\%$) y los más bajos de $\delta^{13}\text{C}$ ($-16.85\pm 0.5\%$), en contraste con los valores de la región norte ($14.23\pm 0.7\%$; $-16.6\pm 0.4\%$; figura 15). Por otro lado, no se encontraron diferencias en el $\delta^{15}\text{N}$ ($t=-0.2$; $p=0.7$) y $\delta^{13}\text{C}$ ($t=-0.7$; $p=0.4$), entre las ballenas muestreadas en la zona costera ($14.5\pm 0.7\%$; $-16.8\pm 0.6\%$; $n = 64$) versus la zona oceánica ($14.6\pm 0.9\%$; $-16.7\pm 0.4\%$; $n = 37$).

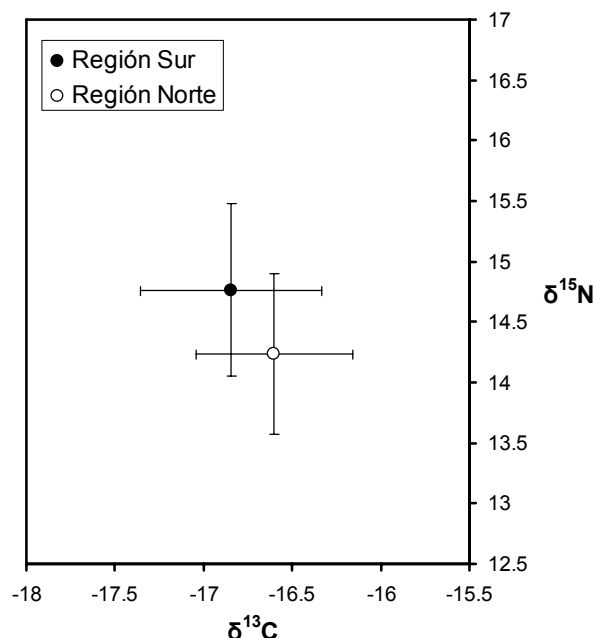


Figura 15. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en piel de ballenas azules entre las regiones norte y sur del Golfo de California.

6.7. Variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballena azul a lo largo de los meses

Se obtuvieron muestras de enero ($n = 8$), febrero ($n = 22$), marzo ($n = 65$), abril ($n = 14$) en el Golfo de California, así como octubre ($n = 9$), fuera de la costa de Baja California. El mes de abril presentó un $\delta^{15}\text{N}$ ($F=8.7$; $p=0.000004$) estadísticamente más alto (media \pm D.E., $15.4\pm 0.7\%$) que los otros meses, mientras el $\delta^{15}\text{N}$ ($13.67\pm 0.9\%$) de la piel colectada en octubre fue significativamente menor que marzo ($14.57 \pm 0.6\%$) y abril, pero no que enero ($14.3\pm 0.6\%$) y febrero ($14.4\pm 0.4\%$; Figura 16; Tabla IV). Aparentemente se registra un cambio en las señales isotópicas del $\delta^{15}\text{N}$, en el cual las ballenas al llegar al Golfo de California presentan un $\delta^{15}\text{N}$ bajo y conforme avanzan los meses de la temporada se vuelve más alto hasta llegar a sus máximos valores en abril. Por otro lado, no se encontró diferencias en el $\delta^{13}\text{C}$ entre los meses ($F=1.06$; $p=0.4$; media \pm D.E., enero: -16.6 ± 0.6 , febrero: -16.9 ± 0.4 , marzo: -16.7 ± 0.5 , abril: -16.8 ± 0.4 y octubre: -16.9 ± 0.6), sin embargo, presentó una alta variabilidad a lo largo de los mismos (-15.7 a -18.4% ; figura 16).

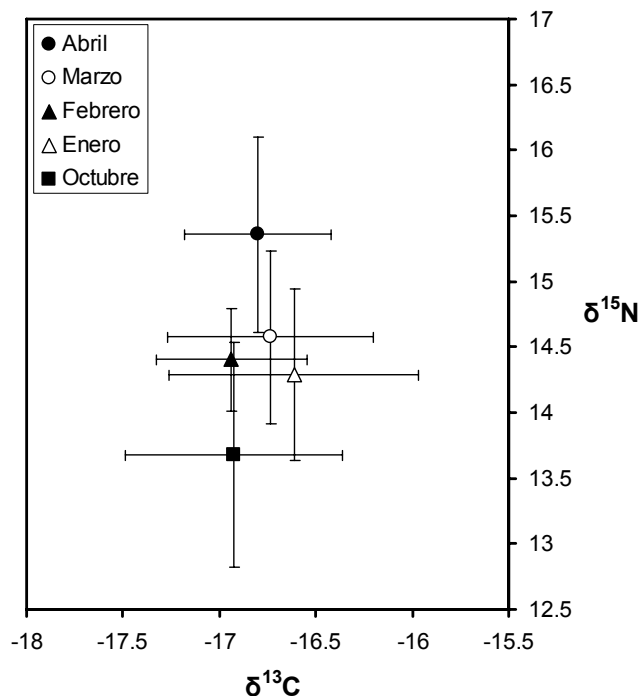


Figura 16. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en piel de ballenas azules a lo largo de los meses dentro del Golfo de California y la costa occidental de Baja California.

Tabla IV. Diferencias entre el $\delta^{15}\text{N}$ de la piel colectada a lo largo de los diferentes meses (enero-octubre), mediante la Prueba de diferencias significativas de Tukey.

DVS-Tukey					
$\delta^{15}\text{N}$	1 (14.3)	2 (14.4)	3 (14.6)	4 (15.4)	5 (13.7)
Enero		1.00	0.87	<u>0.02</u>	0.52
Febrero	1.00		0.90	<u>0.00</u>	0.15
Marzo-	0.87	0.90		<u>0.01</u>	<u>0.01</u>
Abril	<u>0.02</u>	<u>0.005</u>	<u>0.01</u>		<u>0.00001</u>
Octubre	0.52	0.15	<u>0.01</u>	<u>0.00001</u>	

Números negros y subrayados = diferencias significativas
 Números entre paréntesis () = media de cada mes

6.8. Variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el eufáusido *N. simplex* y en las heces fecales de ballena azul dentro del Golfo de California

Se colectaron 16 muestras del eufáusido *N. simplex*, 12 en la región sur y 4 en la región norte del Golfo de California (Anexo II). Los eufáusidos del norte presentaron un $\delta^{15}\text{N}$ (media \pm D.E., 12.4 \pm 0.7‰) significativamente más bajo ($t=-6.24$; $p=0.00002$) que los del sur (14.58 \pm 0.6‰), pero no existieron diferencias significativas en el $\delta^{13}\text{C}$ ($t=-1.9$; $p=0.07$) entre ambos (media \pm D.E., región norte: -18 \pm 0.5; región sur: -17.6 \pm 0.7; Figura 17).

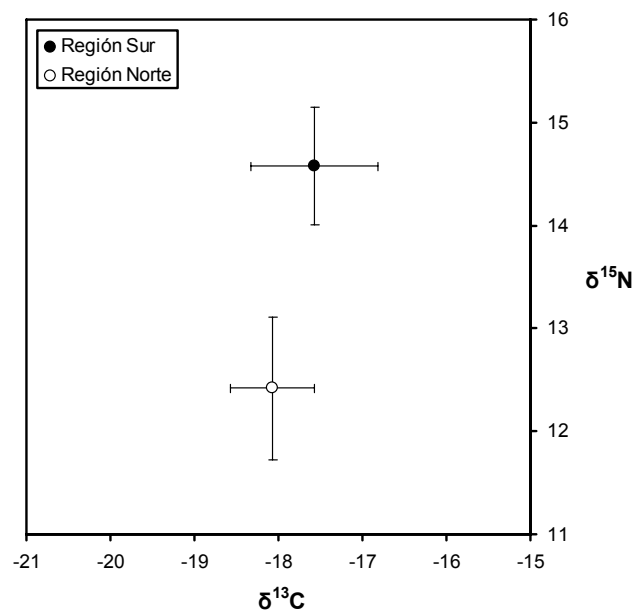


Figura 17. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) medidos en *N. simplex* colectados en la región sur y norte del Golfo de California.

Finalmente, las heces fecales, también presentaron una alta variabilidad. Los valores isotópicos más altos fueron de 16‰ ($\delta^{15}\text{N}$) y -16‰ ($\delta^{13}\text{C}$), mientras que los más bajos fueron 11.7‰ ($\delta^{15}\text{N}$) y -19.2‰ ($\delta^{13}\text{C}$). Las muestras, de heces fecales, en conjunto presentaron medias (\pm D.E.) de 13.7 \pm 1.2‰ ($\delta^{15}\text{N}$) y de -17.9 \pm 1.2‰ ($\delta^{13}\text{C}$).

7. ANÁLISIS

La técnica de isótopos estables de nitrógeno y carbono se ha utilizado para obtener más información relacionada con algunos aspectos ecológicos de los mamíferos marinos (Kelly, 2000). En cetáceos de vida libre, la piel ha resultado ser un tejido sumamente útil en para estudios de relaciones tróficas con sus presas (e.g. relaciones tróficas entre los cachalotes y calamares; Ruiz-Cooley *et al.*, 2004). En este estudio se corroboró que este tejido también es útil para inferir sobre el movimiento de las ballenas azules entre sus áreas de alimentación (costas de California, Baja California y el Golfo de California), lo cual amplía la posibilidad del uso de esta técnica en otros cetáceos de vida libre. Para llegar a esta conclusión, se tuvieron en cuenta y analizaron algunas fuentes de variabilidad isotópicas, tanto en la piel de la ballena azul (variabilidad por preservación; a nivel individual; entre individuos; por sexo y clases de edad, a lo largo de los meses y en diferentes regiones del Golfo de California) como en su presa principal dentro del Golfo de California (Tabla V).

7.1. La piel de ballena azul como tejido

Debido a que no se detectaron diferencias significativas entre el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel preservada en DMSO y la piel congelada (o control) en un periodo de hasta 8 meses, fue posible ampliar considerablemente el tamaño de muestras, utilizando las muestras de piel disponibles del banco de tejidos del laboratorio de Ecología de los Mamíferos Marinos (Anexo I, III y IV). Se ha planteado la posibilidad de utilizar muestras preservadas con distintos métodos para los análisis de $\delta^{15}\text{N}$ en diferentes tejidos, así como en organismos completos, por ejemplo el formol y el etanol a distintas concentraciones (Kaehler y Pakmov, 2001; Rau *et al.*, 2003). Varios estudios indican que el $\delta^{13}\text{C}$ tiene una mayor sensibilidad al método de preservación (e.g. formol y etanol) e inclusive se ha descartado el uso de los mismos (Sarakinis *et al.*, 2002; Rau *et al.*, 2003). El único trabajo que estudia el efecto del uso del DMSO en el $\delta^{13}\text{C}$ de piel y grasa obtenida de biopsias, fue realizado con la ballena jorobada, y mostró que existe un sesgo hacia valores significativamente más bajos de $\delta^{13}\text{C}$ asociado a la

preservación de estos tejidos en DMSO, no obstante, este sesgo puede ser evitado mediante la remoción del DMSO durante los métodos de extracción de lípidos de las muestras (e.g. extracción mediante sonicación y soxhlet; Todd *et al.*, 1997). En este estudio no hubo sesgos en el $\delta^{13}\text{C}$ de la piel preservada en DMSO, por lo que se concluyó que el uso de la técnica de extracción de lípidos asistida con un horno de microondas (MAE; Paré *et al.*, 1994), también removió eficientemente el DMSO, lo cual coincide con lo las conclusiones de Todd *et al.* (1997).

Tabla V. Resumen de resultados obtenidos en las pruebas estadísticas aplicadas con el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel y los eufáusidos en este estudio. En la tabla también se muestran los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ máximos y mínimos obtenidos para cada grupo de muestras.

Fuente de Variabilidad		<i>n</i>	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)			$\delta^{13}\text{C}$ (‰)			Valores de <i>p</i>
			<i>x</i> ± DS	Min.	Max.	<i>x</i> ± DS	Min.	Max.	
Piel de Ballena azul:									
Preservación									
Dimetil sulfóxido vs. Congelado	Dimetil sulfóxido	23	14 ± 1	11.5	15.3	-16.8 ± 0.6	-17.9	-15.7	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.96
	Congelado	23	14 ± 1	12	15.2	-16.8 ± 0.7	-18	-15.7	$\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.89
Capas epidérmicas									
Germinativa vs. intermedia vs. externa vs. piel descamada	Germinativa	61	14.7 ± 0.7	13.6	16.7	-16.6 ± 0.5	-18.4	-15.8	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.018* $\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.009*
	Intermedia	36	14.6 ± 0.9	13.8	16.5	-16.7 ± 0.5	-17.7	-15.7	
	Externa	57	14.8 ± 0.7	13.5	16.8	-16.6 ± 0.6	-17.6	-15.9	
	Piel descamada	91	14.4 ± 0.9	11.5	16.1	-16.9 ± 0.6	-18.1	-15.7	
Sexo									
Hembras vs. Machos	Hembras	55	14.5 ± 0.7	12.9	17	-16.8 ± 0.6	-17.9	-15.3	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.7
	Machos	32	14.6 ± 0.7	12.5	16	-16.6 ± 0.4	-17.4	-15.8	$\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.024*
Clases de edad									
Crías vs. juveniles vs. adultos	Crías	9	15 ± 0.6	14	16	-16.7 ± 0.7	-17.4	-15.3	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.13
	Juveniles	5	14.7 ± 0.7	13.6	15.5	-16.8 ± 0.7	-17.9	-16.3	$\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.75
	Adultos	23	14.6 ± 0.6	13.3	15.5	-16.9 ± 0.5	-17.7	-15.9	
Crías vs. hembras lactantes	Crías	9	15 ± 0.6	14	16	-16.7 ± 0.7	-17.4	-15.3	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.04*
	Hembras lactantes	14	14.56 ± 0.6	13.5	15.8	-16.9 ± 0.6	-17.5	-15.5	$\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.5
Regiones del Golfo de California									
Norte vs. sur	Norte	28	14.2 ± 0.7	12.4	15.2	-16.6 ± 0.4	-17.9	-15.8	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.0007*
	Sur	72	14.8 ± 0.7	11.7	16.7	-16.8 ± 0.5	-18.4	-15.7	$\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.02*
Zonas en el Golfo de California									
Costera vs. Oceánica	Costera	64	14.5 ± 0.7	11.7	16	-16.8 ± 0.6	-18	-15.3	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.8
	Oceánica	37	14.6 ± 0.9	12.4	16.7	-16.7 ± 0.4	-17.9	-15.8	$\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.4
Meses									
Enero vs. febrero vs. marzo vs. abril vs. octubre	Enero	8	14.3 ± 0.6	13.35	15	-16.6 ± 0.6	-17.3	-15.7	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.000004* $\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.4
	Febrero	22	14.4 ± 0.4	11.73	15	-16.9 ± 0.4	-17.4	-16	
	Marzo	65	14.6 ± 0.6	13	15.5	-16.7 ± 0.5	-18.4	-18.8	
	Abril	14	15.4 ± 0.7	14.3	16.7	-16.8 ± 0.4	-17.7	-16	
	Octubre	9	13.7 ± 0.9	12.73	15.28	-16.9 ± 0.6	-17.66	-15.8	
Nyctiphanes simplex:									
Regiones del Golfo de California	Norte	4	12.4 ± 0.7	12	13.4	-18 ± 0.5	-18.4	-17.3	$\delta^{15}\text{N}$: <i>p</i> = 0.00002*
	Sur	12	14.6 ± 0.6	14	15.5	-17.6 ± 0.7	-18.8	-16.2	$\delta^{13}\text{C}$: <i>p</i> = 0.07

(*) Diferencias estadísticamente significativas

La disposición y morfología de las células que constituyen las diferentes capas de la piel de ballena azul son similares a las ya descritas de forma general para otros cetáceos (Harrison, 1974; Ling, 1974), en particular para el rorcual común (*Balaenoptera physalus*; Giacometti, 1967) y el delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*; Geraci *et al.*, 1986). La piel de cetáceos presenta glóbulos de lípidos a lo largo de todas sus capas epidérmicas, incluyendo la capa epidérmica externa y se ha planteado que tienen una función hidrodinámica para reducir la fricción que ejerce el agua sobre su cuerpo (Geraci *et al.*, 1986; Pfeiffer y Jones, 1993). Los tejidos con altos contenidos de lípidos están usualmente enriquecidos en ^{12}C , lo que podría sesgar a valores más bajos (o negativos) de $\delta^{13}\text{C}$, en alrededor de 3 a 4‰ (Post *et al.*, 2007), lo cual fue de alguna manera corregido al extraer los lípidos de este tejido antes de llevar a cabo el análisis de isótopos estables.

En los estudios relacionados con la migración de mysticetos, hasta la fecha se ha utilizado tejidos que registran las señales isotópicas de lo que el animal consumió a lo largo de su vida, como son las barbas y hueso (Schell *et al.*, 1989; Kelly, 2000; Lee *et al.*, 2005). La piel, en contraste, es un tejido que después de ser formado (en la capa epidérmica germinativa) atraviesa una serie de capas hasta que finalmente es expulsado al medio y las señales isotópicas en ese tejido, que son representativas de una historia trófica relativamente reciente (~73 días), se pierden. En este estudio se abordó la variabilidad isotópica entre éstas capas epidérmicas, con el fin de registrar los cambios en las señales isotópicas a lo largo de este tejido.

7.2. Variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ en la piel de ballena azul

Algunas ballenas azules del Pacífico Noreste se desplazan entre las costas de California y el Golfo de California (Calambokidis *et al.*, 1990), dos ecosistemas que exhiben diferencias biogeoquímicas a nivel del material orgánico particulado (MOP; Altabet *et al.*, 1999). La costa de California, donde se alimentan en verano-otoño (Fiedler *et al.*, 1998), es un ecosistema en donde el enriquecimiento de nutrientes fundamentalmente es promovido por los procesos de surgencias costeras, donde el

MOP, que se ha considerado como la base de la cadena trófica de los ecosistemas, exhibe un $\delta^{15}\text{N}$ de $7\pm 0.9\text{‰}$ (promedio calculado a partir de: Altabet *et al.*, 1999; Voss *et al.*, 2001; Miller, 2006). Mientras que el Golfo de California, lugar donde se alimentan las ballenas en invierno-primavera (Gendron, 2002), es un ecosistema con enriquecimiento superficial de nutrientes promovido en gran medida por el reciclamiento del MOP, con un $\delta^{15}\text{N}$ relativamente elevado de $11\pm 0.7\text{‰}$ (promedio calculado a partir de: Altabet *et al.*, 1999). En las costas de California, la presa principal de la ballena azul son eufáusidos de las especies *Thysanoëssa spinifera* y *Euphausia pacifica* (Rice, 1986; Rice, 1992; Schoenherr, 1991; Kieckhefer *et al.*, 1995; Fiedler *et al.*, 1998), que exhiben un $\delta^{15}\text{N}$ de $10.3\pm 0.9\text{‰}$ (promedio calculado a partir de: Sydeman *et al.*, 1997; Miller, 2006), mientras que en el Golfo de California se alimentan principalmente *N. simplex* (Gendron, 1992; Del Ángel-Rodríguez, 1997, Mejía-Acosta, 2003), el cual exhibe, según los resultados de este estudio un valor de $\delta^{15}\text{N}$ significativamente más elevado en promedio de $14.04\pm 1.1\text{‰}$. Es así que las señales isotópicas del $\delta^{15}\text{N}$ en el MOP y los eufáusidos del Golfo de California son 3.3‰ y 3.7‰ respectivamente mayores que los valores reportados para el MOP y eufáusidos de la costa de California (Figura 18). Estas diferencias, aparentemente se detectan en el $\delta^{15}\text{N}$ de la piel de las ballenas azules, ya que el $\delta^{15}\text{N}$ de la piel colectada en el Golfo de California en el mes de abril ($15.36\pm 0.7\text{‰}$) fue estadísticamente más alto que los de enero ($14.28\pm 0.6\text{‰}$), febrero ($14.4\pm 0.4\text{‰}$), marzo ($14.57\pm 0.6\text{‰}$) y a su vez, que el $\delta^{15}\text{N}$ de las ballenas muestreadas en octubre fuera de la costa occidental de Baja California ($13.67\pm 0.9\text{‰}$; Figura 18). Lo anterior indica que las ballenas azules llegan al Golfo de California con una señal de $\delta^{15}\text{N}$ relativamente baja, la cual se incrementa al consumir *N. simplex* (con un $\delta^{15}\text{N}$ relativamente elevado), en el Golfo de California. Así, la señal isotópica de esta presa se va detectando gradualmente en la piel de las ballenas, hasta obtener la señal de $\delta^{15}\text{N}$ más elevada en la piel colectada en abril, la cual se consideró como la señal isotópica distintiva del Golfo de California (Figura 18).

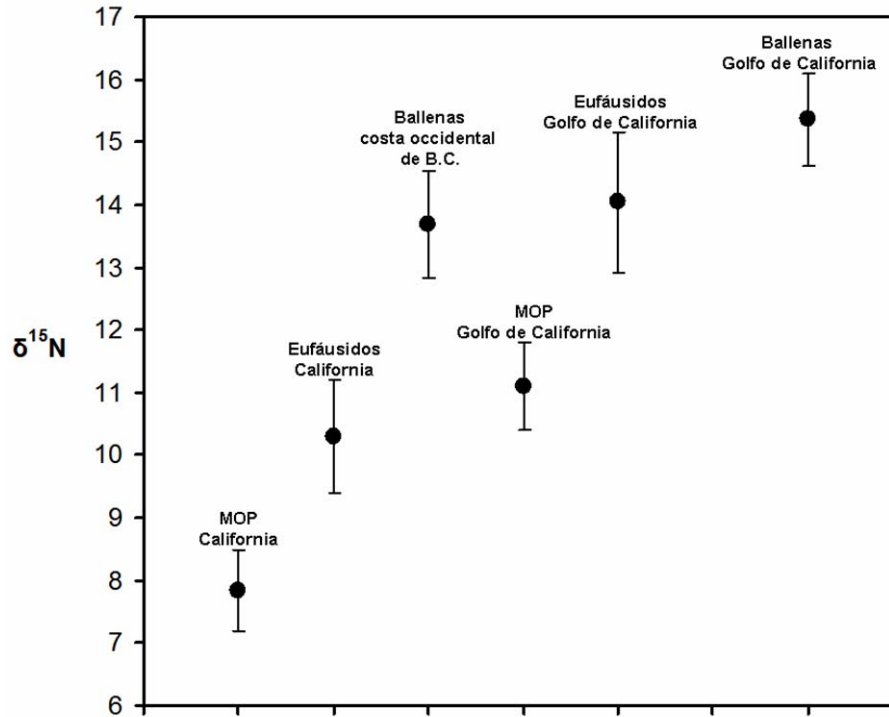


Figura 18. Relación trófica con el $\delta^{15}\text{N}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) entre los euphausiidos y las ballenas azules del Golfo de California y de la costa occidental de Baja California (B.C.), tomando el valor base del MOP del Golfo de California y costas de California (Altabet *et al.*, 1999; Voss *et al.*, 2001; Miller, 2006) y los euphausiidos de la costa de California (Sydemann *et al.*, 1997; Miller, 2006).

La diferentes señales isotópicas registrada en la piel de la ballena azul entre áreas de alimentación y su variación gradual a lo largo de los meses (enero-abril) dentro del Golfo de California, permite estimar indirectamente la tasa de recambio de la piel de ballena azul, la cual sería en un periodo aproximado de tres meses, tiempo que tarda la señal isotópica de *N. simplex* del Golfo de California, en detectarse en este tejido.

Las dos diferentes señales isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$, una de la costa de California/costa occidental de Baja California y la otra del Golfo de California, aparentemente también se detectaron en las distintas capas epidérmicas de la piel. La variabilidad que se detectó en el $\delta^{15}\text{N}$ de las capas epidérmicas de la piel, de ballena azul, es indicador de la formación de cada una de las capas en diferentes tiempos (Schell *et al.*, 1989). Las capas superiores de la epidermis (intermedia, externa y la piel descamada),

después de ser formadas en la capa germinativa se consideran un tejido inactivo metabólicamente, que probablemente presente la señal isotópica de la dieta consumida previamente en otras áreas de alimentación; lo anterior es posible únicamente si la señal isotópica de las áreas de alimentación previas no ha sido reemplazada por la señal isotópica del área de alimentación en la que se encuentran los organismos (Schell *et al.*, 1989; Hobson, 1999). Esto es corroborado por los resultados de este estudio, donde se observó que las primeras capas germinativa (apenas formada), intermedia y externa, únicamente presentaron valores de $\delta^{15}\text{N}$ mayores a 13.6‰, mientras que la piel descamada presentó valores de hasta 11.5‰ (Tabla V), y los valores más frecuentes en todas las capas epidérmicas incluyendo la piel descamada fueron de 14 a 16‰ (Resultados, figura 11). Esto es evidencia de que la mayoría de las ballenas azules que se muestrearon en este estudio habían adquirido la señal de *N. simplex* del Golfo de California, a lo largo de toda la piel. No obstante la señal de las costas de California y costa occidental de Baja California aún fue detectada en la piel descamada que presentó un $\delta^{15}\text{N}$ ($14.4 \pm 0.9\text{‰}$) relativamente menor en promedio a los de las otras capas epidérmicas ($\delta^{15}\text{N}$: $14.7 \pm 0.1\text{‰}$), aunque esto no fue estadísticamente significativo, probablemente debido al reducido número de muestras de piel descamada en las que se detectó la relativamente baja señal de las costas de California y la costa occidental de Baja California (Resultados, figura 11).

Algunos misticetos están adaptados a almacenar grandes cantidades de grasa para ser utilizada como reserva de energía durante la migración a zonas poco productivas en el invierno (Lockyer y Brown, 1981). En esta etapa, las ballenas dejan de alimentarse y se dedican en gran medida a las actividades de reproducción y crianza. Varios autores han encontrado que los animales que exhiben periodos de ayuno prolongados, asociados a su época de reproducción o a situaciones de estrés nutricional (e.g. aves y venados), presentan $\delta^{15}\text{N}$ considerablemente más elevados, debido al consumo de las reservas proteínicas de sus tejidos (Hobson *et al.*, 1993; Cormie y Schwarcz, 1996). El mecanismo es similar al que causa el fraccionamiento isotópico entre distintos niveles tróficos. Como no existe un aporte de proteína de la

dieta, los isótopos ligeros de los tejidos siguen siendo excretados al medio y el animal se va relativamente enriqueciendo progresivamente en ^{15}N (Gannes *et al.*, 1997). Es posible que la ballena azul durante su migración a lo largo de las costas de Baja California atraviese por un periodo de ayuno. No obstante, con base en datos de algunas marcas de satelitales, se ha propuesto que aparentemente el movimiento de ballena azul en dirección hacia el sur a finales de otoño es relativamente rápido (pueden tardar hasta alrededor de 10 días en llegar al Golfo de California; Mate *et al.*, 1999), con respecto al movimiento hacia el norte en junio, cuando las ballenas azules se alimentan de las altas biomásas de eufáusidos a lo largo de la costa occidental de la Península de Baja California (Gendron, 2002). Por otro lado, en el Golfo de California, la actividad de alimentación es evidente a partir de observaciones frecuentes de alimentación en superficie y presencia de heces fecales (Gendron, 1992; 2002), por lo que se asume que el efecto de enriquecimiento de $\delta^{15}\text{N}$ causado por el ayuno de las ballenas, si es que existe, probablemente es mínimo.

Se han detectado comparativamente un mayor número de fuentes de variabilidad significativas que pueden modificar el $\delta^{15}\text{N}$ en el mar, que aquellas que influyen en el $\delta^{13}\text{C}$ (Kelly, 2000). Entre ellas están los complejos procesos oceanográficos y biológicos que modifican la cantidad de nitrógeno inorgánico disuelto a nivel regional y local, las distintas fuentes primarias de nitrógeno inorgánico utilizadas por el fitoplancton (*e.g.* nitratos, nitritos, amonio, nitrógeno inorgánico reciclado, etc.; Unkovich *et al.*, 2001), la absorción de los isótopos de nitrógeno de la dieta y la tasa de conversión de amino ácidos a otros compuestos (Ambrose y DeNiro, 1986). Aparentemente, la principal fuente de variabilidad que influye en el $\delta^{15}\text{N}$ de la piel de ballena azul, esta relacionada con su movimiento latitudinal entre áreas de alimentación con señales biogeoquímicas diferentes y con el consumo de las distintas especies de eufáusidos de las que se alimenta en cada uno de estos ecosistemas (Figura 18).

En estudios previos de hábitos alimentarios a partir de contenido en heces fecales de ballena azul en el Golfo de California, se encontró una dominancia de formas juveniles y adultos del eufáusido *N. simplex* (Del Ángel-Rodríguez, 1997) tanto en

hembras como en machos, pero en hembras lactantes, se observó un consumo de *N. simplex* significativamente de tallas significativamente mayores (Mejía-Acosta, 2003). La similitud del $\delta^{15}\text{N}$ en ambos sexos de ballena azul, incluyendo las hembras lactantes, indica que probablemente las hembras y los machos se alimentan de la misma presa o por lo menos que consumen diferentes presas, pero que se encuentran en niveles tróficos similares y sugiere que los procesos metabólicos involucrados en la adquisición de su señal isotópica como son la asimilación de componentes de la dieta y el uso (o la alocación) de los nutrientes de la dieta en los distintos tejidos son comparativamente similares (Gannes *et al.*, 1997).

Por otro lado, las crías presentaron un $\delta^{15}\text{N}$ relativamente más alto ($15.07 \pm 0.6\text{‰}$) que los juveniles y adultos (14.7 ± 0.6), aunque solo fue significativamente diferente la comparación con las hembras lactantes (14.6 ± 0.6). Este enriquecimiento isotópico entre cría y madre se ha detectado previamente en pinnípedos (Jenkins *et al.*, 2001) y osos negros (Hobson *et al.*, 2000), de manera que las crías llegan a estar en un nivel trófico superior (de 1 a 3.8‰) que el de sus madres (Fogel *et al.*, 1989; Hobson y Sease, 1998; Hobson *et al.*, 2000; Jenkins *et al.*, 2001). Esto se debe al consumo y metabolismo de la leche, por parte de las crías, en donde ocurre un segundo fraccionamiento trófico que resulta en los relativamente altos $\delta^{15}\text{N}$ que presenta la cría con respecto a su madre. Entre hembras lactantes y crías hubo un enriquecimiento isotópico, sin embargo este fue relativamente más bajo (de 0.5‰ a 1.5‰) que el detectado en otras especies de mamíferos. Esto podría ser el resultado del reducido número de muestras, así como por la transición de las señales isotópicas de relativamente bajos $\delta^{15}\text{N}$ de las costas de California, a los relativamente altos $\delta^{15}\text{N}$ del Golfo de California en los tejidos de las madres (incluyendo la leche), conforme estas se desplazan y alimentan en el Golfo de California. Por otro lado, desafortunadamente no siempre fue posible obtener las muestras de piel de las crías con sus respectivas madres, por lo que esto también pudo haber influido en los resultados.

Otra fuente de variabilidad notoria en el $\delta^{15}\text{N}$ de la piel de ballena azul fue las diferencias regionales encontradas entre la región norte ($14.23 \pm 0.7\text{‰}$) y la región al

sur ($14.76 \pm 0.7\text{‰}$) de las Grandes Islas del Golfo de California, lo cual sugiere que las diferencias hidrográficas y topográficas entre ambas regiones modifican los aportes de ^{15}N al medio. Esto también coincide con lo encontrado en el $\delta^{15}\text{N}$ de los eufáusidos de la especie *N. simplex*, que mostraron una variabilidad regional considerable dentro del Golfo de California, con un $\delta^{15}\text{N}$ de la región norte ($12.4 \pm 0.7\text{‰}$) significativamente más bajo que la región sur (14.58 ± 0.6). Este resultado apoya la idea de que existe una regionalización isotópica dentro de este complejo ecosistema. No obstante, el tamaño de muestra fue relativamente bajo para poder aseverar de forma concluyente esta idea. Debido a esto, se promedió el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de *N. simplex* en ambas regiones para poder usar este dato como una referencia de la señal isotópica de esta especie dentro del Golfo de California.

Por otro lado, la gran variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ de *N. simplex* (12 a 14.4‰) se puede relacionar con la amplitud de hábitos alimentarios que presenta esta especie. *Nyctiphanes simplex*, se caracteriza por ser un omnívoro oportunista y pueden ajustar sus estrategias alimentarias en relación al alimento disponible, como es el detritus del fondo marino, la nieve marina y el fitoplancton y/o zooplancton (Mauchline, 1980). En un estudio sobre contenidos estomacales de *Nyctiphanes australis*, se encontraron diferentes grupos de fitoplancton (diatomeas, dinoflagelados, entre otros), fragmentos de mesozooplancton (apéndices y mandíbulas) e incluso algunas especies de foraminíferos (Ritz *et al.*, 1990). Así mismo, *N. simplex* es una especie nerítica, que lleva a cabo migraciones verticales a lo largo de la columna de agua (Brinton y Townsend, 1980), quedándose cerca del fondo durante el día, donde posiblemente se alimenta de detritus, mientras que en superficie pueden consumir diversas especies de fitoplancton, las cuales probablemente presentan señales isotópicas diferentes.

7.3. Variabilidad en el $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de ballena azul

La variabilidad del $\delta^{13}\text{C}$ se ha relacionado con las diferentes fuentes primarias o formas de carbono inorgánico del medio (e.g. bicarbonatos y/o dióxido de carbono disuelto) que los productores primarios utilizan para llevar a cabo la fotosíntesis, el

cual es uno de los procesos que primordialmente influye en el $\delta^{13}\text{C}$ que será integrado a la biomasa y con ello a la trama trófica (DeNiro y Epstein, 1978; Kelly, 2000; Unkovich *et al.*, 2001; Vander Zanden y Rasmussen, 2001; O'Reilly *et al.*, 2002). Se ha propuesto que el $\delta^{13}\text{C}$ es un indicador del desplazamiento de los animales entre las zonas costeras y oceánicas (Schell *et al.*, 1998; Burton y Koch, 1999). Lo anterior se relaciona con que el $\delta^{13}\text{C}$ en el carbono orgánico de la base de la trama trófica es comparativamente mayor en las zonas costeras que en las zonas oceánicas y estas diferencias, a su vez, se detectan en el $\delta^{13}\text{C}$ en los tejidos de los animales (Burton y Koch, 1999). En las zonas costeras los procesos de mezcla a lo largo de la columna de agua y las surgencias costeras que aportan nutrientes a la superficie generan condiciones óptimas de crecimiento y florecimiento de fitoplancton, el cual debido a la captación del ^{12}C en el carbono orgánico fijado durante la fotosíntesis, adquiere valores de $\delta^{13}\text{C}$ mayores hasta en 2 a 3‰ comparativamente que los del fitoplancton de las zonas oceánicas. En contraste, en las zonas oceánicas el carbono orgánico de la base de la trama trófica es menor (o más enriquecido con ^{12}C), debido a que los nutrientes son más escasos, la tasa de crecimiento del fitoplancton es menor y en algunas ocasiones las surgencias de aguas profundas aportan nutrientes de las cuencas que son sitios de descomposición del material orgánico isotópicamente ligero (^{12}C ; Schell *et al.*, 1998; Burton y Koch, 1999; Unkovich *et al.*, 2001). Por otro lado, también se ha detectado una variabilidad latitudinal a nivel del $\delta^{13}\text{C}$ de fitoplancton marino, en donde éste es comparativamente más bajo en altas latitudes debido a que por diferentes procesos oceanográficos y atmosféricos de transporte existe una mayor cantidad de ^{12}C disponible (Rau *et al.*, 1982; Best y Schell, 1996).

Con base en lo anterior se podría suponer que la señal del $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballenas fuera un promedio de su desplazamiento entre las diferentes zonas, costeras y oceánicas, así como entre sus áreas de migración (costas de California, Baja California y Golfo de California). Sin embargo, en este estudio se detectaron diferencias significativas entre el $\delta^{13}\text{C}$ de machos ($-16.6 \pm 0.4\text{‰}$) y hembras ($-16.8 \pm 0.6\text{‰}$). Aunado a lo anterior, de 104 ballenas muestreadas 55 son hembras y

32 machos. Esta diferencia en el número de ambos sexos implicó que todas las fuentes de variabilidad evaluadas para el $\delta^{13}\text{C}$ se sesgarían probablemente hacia el valor relativamente más bajo de las hembras. De hecho, las muestras de piel descamada provenían en su mayoría de hembras y exhibieron valores más bajos de $\delta^{13}\text{C}$ que las otras capas epidérmicas. Inclusive, las diferencias significativas encontradas entre el $\delta^{13}\text{C}$ de la región norte (-16.6 ± 0.4) y la región sur (-16.8 ± 0.5) del Golfo de California, probablemente estén asociadas con la segregación sexual entre regiones del Golfo de California, con las hembras presentes principalmente en la región sur y los machos preferentemente en la región norte (Tabla VI).

Tabla VI. Número de machos, hembras e individuos no sexados de ballena azul avistados en cada región del Golfo de California.

Región del Golfo de California	Machos	Hembras	No sexados
Región Norte	18	5	5
Región Sur	10	43	19

En este estudio, a diferencia de otros (Schell *et al.*, 1998; Burton y Koch, 1999), la variabilidad en el $\delta^{13}\text{C}$ aparentemente no está relacionada con la señal isotópica de la zona (costera u oceánica) en la que se alimentan las ballenas azules, si no que aparentemente está relacionada principalmente, pero no exclusivamente, con las diferencias a nivel metabólico entre sexos. Esto puede estar relacionado con que las hembras y machos asimilan los nutrientes con diferente eficiencia o dirigen los nutrientes de forma diferencial a tejidos específicos. Mejía-Acosta (2003), analizando heces de ballenas azules no encontró diferencias en el tamaño de los eufáusidos consumidos entre sexo, por lo que es poco probable que la variabilidad en el $\delta^{13}\text{C}$ se deba a que las hembras tengan una dieta diferente a los machos. Además, a nivel biomolecular, Rueda-Flores (2007), encontró una alta correlación entre los perfiles de ácidos grasos de reserva de *N. simplex* y las diferentes categorías de ballenas azules, sin embargo concluye que los perfiles de ácidos grasos de reserva varían en

función de la categoría de edad y el sexo, debido al metabolismo propio de cada grupo. Esto último evidencia que las hembras y los machos metabolizan los nutrientes de manera distinta. Aparentemente estas diferencias metabólicas entre sexos solo se detectaron a nivel del $\delta^{13}\text{C}$, ya que como se había mencionado anteriormente, no se encontraron diferencias significativas en el $\delta^{15}\text{N}$ entre sexos. Probablemente estas diferencias metabólicas se relacionan con el uso diferencial de los lípidos, ya que en general las hembras presentan demandas energéticas distintas a las de los machos. No obstante, no se descarta por completo la posibilidad de que la alta variabilidad del $\delta^{13}\text{C}$ en piel de ballena azul este de alguna manera relacionada con el desplazamiento constante de las mismas entre las zonas costeras y oceánicas.

7.4. Variabilidad en $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel de ballenas azules a nivel individual

Las unidades de desviación estándar fueron efectivas medidas de aproximación a la variabilidad individual, lo cual concuerda con el primer trabajo, hasta donde se tiene conocimiento, enfocado a la variabilidad isotópica a nivel individual realizado con nutrias (S.D. Newsome, *datos sin publicar*). El 90% de las ballenas exhibieron una desviación estándar $<0.5\text{‰}$ entre sus distintas capas epidérmicas, lo cual permite suponer que el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la piel es relativamente estable a lo largo del cuerpo de la ballena azul a nivel individual. Esto último es relevante debido a que las biopsias de los cetáceos se obtienen directamente de cualquier parte del lomo del animal, en el momento en que este sale a respirar, por lo cual no es posible asegurar que todas las biopsias provengan exactamente del mismo lugar.

Con respecto al tiempo, la variabilidad en los valores isotópicos de los individuos foto-recapturados fue mínima y similar a la magnitud encontrada a nivel individual (de 0.01 a 0.5‰). Esto indica que el tiempo de permanencia de estos individuos, en el Golfo de California, fue relativamente mayor a la tasa de recambio de la piel (aproximadamente tres meses). Sin embargo, el cambio registrado en el $\delta^{15}\text{N}$ 1.23‰ y $\delta^{13}\text{C}$ 0.9‰, en un periodo de 19 días, entre las muestras de piel de una hembra

lactante (#451), la cual debido al proceso de lactancia presenta una comparativamente alta tasa de descamación de la piel (Ugalde de la Cruz, 2005) con respecto a las hembras no lactantes y los machos, podría explicarse en términos del cambio de la señal isotópica de sus áreas previas de alimentación (costas de California o costa occidental de Baja California) a la señal del Golfo de California. De hecho, un tercer muestreo otros 19 días después, muestra una estabilización de la señal (ver Tabla III), lo que mostró el registro gradual de la señal del Golfo en este tejido. El otro caso (individuo #519), en el que la tasa de cambio de señal isotópica fue en corto tiempo (cambio de $\delta^{15}\text{N}$ 1.23‰ y $\delta^{13}\text{C}$ 0.9‰ en cinco días), implicó una comparación de muestras de piel descamada, que probablemente presentaba la señal isotópica de las costas de California y de la capa epidérmica germinativa, que presentaba la señal isotópica de las presas ingeridas recientemente en el Golfo de California (Resultados, Tabla III).

7.5. Relación trófica entre el MOP, los eufáusidos, la piel y heces fecales de ballenas en el Noroeste de México

En la bibliografía consultada no se encontró información sobre el $\delta^{13}\text{C}$ en MOP de las costas de California, costa occidental de Baja California y Golfo de California, por lo que en el caso del $\delta^{13}\text{C}$ únicamente se describieron las relaciones tróficas entre ballenas azules y eufáusidos. Se observó un enriquecimiento isotópico en el $\delta^{15}\text{N}$ (aproximadamente de 1 a 3‰) desde la base de la trama trófica representada por el MOP, hasta las ballenas (Figura 18); mientras se observó también un incremento en el $\delta^{13}\text{C}$ (aproximadamente 1 a 2.8‰) entre los eufáusidos y las ballenas (Figura 19). Esto es congruente con estudios previos que describen un fraccionamiento isotópico que tiende a ser por lo general hacia el incremento o enriquecimiento de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ entre cada nivel trófico, debido a la retención selectiva del isótopo pesado y la excreción del isótopo ligero (Kelly, 2000; Vander Zanden y Rasmussen, 2001; O'Reilly *et al.*, 2002). La importancia de encontrar esta relación trófica radica en que varios estudios con vertebrados superiores han mostrado que en algunos ecosistemas no siempre es evidente el enriquecimiento isotópico entre los distintos niveles tróficos e inclusive la relación isotópica entre la presa o dieta y su depredador

o consumidor, lo cual puede estar relacionado con el metabolismo particular de la especie o del individuo, las tasas de crecimiento diferenciales entre la presa con respecto a su depredado y con la tasa de recambio metabólico del tejido (Kelly, 2000; Gannes *et al.*, 1997; O'Reilly *et al.*, 2002).

Las heces fecales presentaron señales isotópicas similares a lo asimilado de la dieta, por las ballenas azules (señales isotópicas de la piel) en el Golfo de California, pero en promedio fueron relativamente más bajas ($\delta^{15}\text{N}$:1.2‰ y $\delta^{13}\text{C}$:1.2‰), como resultado del fraccionamiento trófico que ocurre durante el metabolismo de las ballenas (Gannes *et al.*, 1997; Gannes *et al.*, 1998; Unkovick *et al.*, 2001).

De forma similar a lo encontrado en lobo marino, *Zalophus californianus* (Aurioles-Gamboa *et al.*, 2002), el presente estudio demostró que las ballenas azules pueden ser organismos bio-monitores, ya que registran información en sus tejidos de la señal isotópica del medio marino a nivel temporal a lo largo de su ruta migratoria estacional. A su vez, estas señales isotópicas, son influenciadas por los eventos oceanográficos y biológicos que ocurren dentro de los ecosistemas entre los que se desplazan. De manera que en este estudio hay evidencia que sugiere que los relativamente bajos valores de $\delta^{15}\text{N}$ de la piel de ballenas son representativos de la señal isotópica de la costa de California y de la costa occidental de Baja California, mientras que los relativamente más altos valores de $\delta^{15}\text{N}$ representan la señal isotópica del Golfo de California. La variabilidad del $\delta^{13}\text{C}$, aparentemente esta relacionada principalmente con las diferencias metabólicas entre machos y hembras, así como a la segregación de ambos sexos entre regiones del Golfo de California. Aunque no debería descartarse por completo la posibilidad de que esta alta variabilidad en la señal isotópica del $\delta^{13}\text{C}$ este relacionada en parte con que las ballenas se mueven constantemente entre las zonas costeras y oceánicas, tanto dentro del Golfo de California como a lo largo de su migración hacia el sur de las costas de California y Baja California hacia el Golfo de California. Finalmente, la gran variabilidad regional detectada a nivel isotópico en este estudio demuestra la importancia de realizar en un futuro estudios a escalas temporales mayores

relacionados con la biogeoquímica de las diferentes regiones dentro del Golfo de California o inclusive en el Pacífico Noreste.

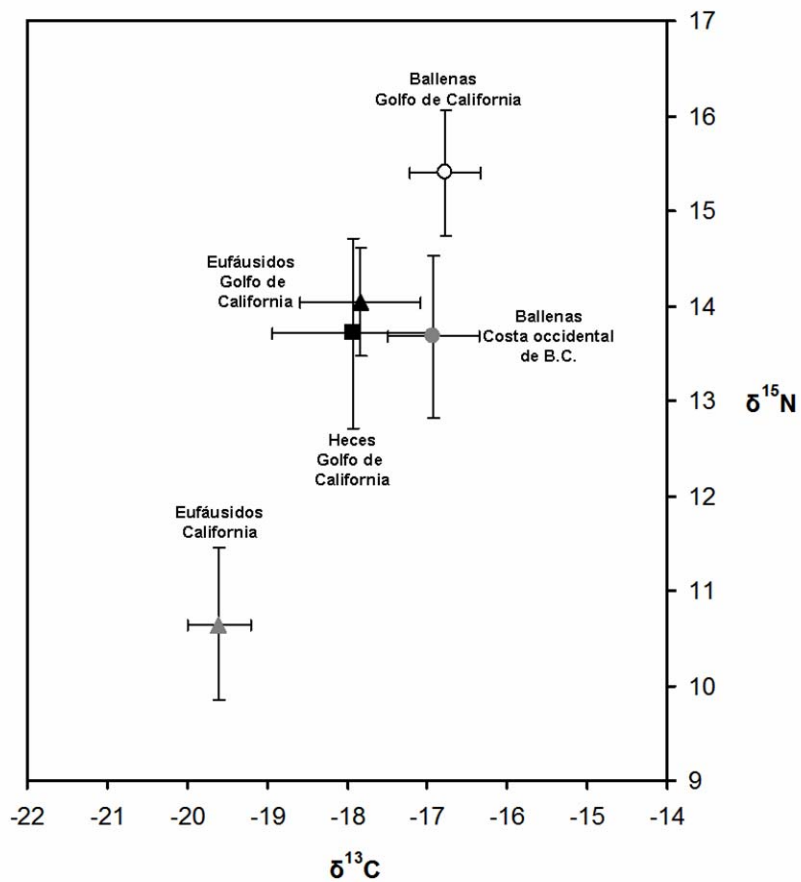


Figura 19. Relación trófica de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm desviación estándar en ‰) entre los eufáusidos (*N. simplex*, este estudio) del Golfo de California, los eufáusidos de las costas de California (Sydeman *et al.*, 1997; Miller, 2006) y las ballenas azules del Golfo de California y la costa occidental de Baja California (B.C.).

8. CONCLUSIONES

- ❖ El dimetil sulfóxido es un preservador que no afecta significativamente las señales isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en la piel descamada, con respecto al congelado de muestras (a -70°C), por lo que este tejido preservado en DMSO puede ser utilizado en estudios de isótopos estables de nitrógeno y carbono, por lo menos en un periodo menor a ocho meses.
- ❖ Con base en los cambios relativos en las señales isotópicas en la piel de ballena azul a lo largo de los meses (enero-abril), durante su permanencia en el Golfo de California, se estima que la tasa de recambio de la piel es de aproximadamente tres meses.
- ❖ La variabilidad a nivel individual, del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en las distintas capas epidérmicas de cada individuo de ballena azul, es mínima (más del 90% de los individuos presentaron una desviación estándar menor a 0.4). Con base en lo anterior, se asume que probablemente a lo largo de todo el cuerpo de la ballena azul las señales isotópicas, del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, en la piel son similares.
- ❖ El enriquecimiento isotópico del $\delta^{15}\text{N}$, entre las crías y hembras lactantes de ballena azul fue de 0.5 a 1.5‰ y se relaciona directamente con el fraccionamiento trófico que ocurre cuando la cría consume la leche de la madre. Esto coincide con lo previamente observado en otros mamíferos marinos y terrestres.
- ❖ La relación trófica entre MOP, eufáusidos y ballenas azules de las costas de California, costa occidental de Baja California y el Golfo de California fue de un enriquecimiento isotópico de aproximadamente 1 a 3‰ en $\delta^{15}\text{N}$ y de 1 a 2.8‰ en el $\delta^{13}\text{C}$. Las heces fecales presentaron señales isotópicas similares a lo asimilado de la dieta, por lo que pueden ser un buen indicador complementario de la alimentación de las ballenas.

- ❖ En este estudio la variabilidad del $\delta^{13}\text{C}$ en la piel de ballenas, fue relacionada principalmente con las diferencias en el metabolismo de machos y hembras, diferencias similares han sido concluidas en otros estudios utilizando trazadores moleculares como los ácidos grasos y contaminantes químicos. También podría estar relacionada con el desplazamiento constantemente de las ballenas entre las zonas costeras y oceánicas, tanto dentro del Golfo de California como a lo largo de su migración hacia el sur de las costas de California y Baja California hacía el Golfo de California.

- ❖ La gran variabilidad en las señales isotópicas de los eufáusidos de la especie *N. simplex*, esta asociada a sus hábitos omnívoro-oportunistas y a sus migraciones verticales a lo largo de la columna de agua.

- ❖ La variabilidad en el $\delta^{15}\text{N}$ (11.5‰ a 16.9‰) entre piel de diferentes individuos está influida principalmente por los cambios temporales (entre los meses de muestreo). Esto se asocia con el registro de señales isotópicas distintas, que provienen de dos ecosistemas con diferencias regionales biogeoquímicas: en donde posiblemente las señales isotópicas relativamente más bajas, registradas en la piel de ballena azul, pertenecen a costas de California y Baja California (enero, febrero y octubre), mientras que las señales isotópicas relativamente más altas, provienen del Golfo de California (abril).

9. RECOMENDACIONES

- Para reforzar las conclusiones obtenidas en este estudio se recomienda realizar un análisis de isótopos estables de nitrógeno y carbono del MOP y de *N. simplex* (por sexo, talla y experimentos controlados de alimentación herbívora, omnívora y carnívora) a escala espacio-temporal, más amplio para corroborar si efectivamente existe una regionalización isotópica en el Golfo de California.
- También se recomienda realizar otro estudio en el cual se obtenga piel de ballenas azules en las costas de California así como en otras áreas de alimentación de esta especie, para determinar como varían las señales isotópicas de estas y proseguir con un estudio de mayor cobertura geográfica y temporal que abarque ampliamente su ámbito de migración interanual.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Altabet, M.A., C. PilskaIn, R. Thunell, C. Pride, D. Sigman, F. Chavez & R. Francois. 1999. The nitrogen isotope biogeochemistry of sinking particles from the margin of the Eastern North Pacific. *Deep-Sea Res. PT I*. 46:655-679.
- Álvarez-Borrego, S. 1983. Gulf of California, 427-449. En: Ketchum, B.H. (Ed.). *Ecosystems of the World 26- Estuaries and Enclosed Seas*. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam. 500 p.
- Álvarez-Borrego, S. & J.L. Lara-Lara. 1991. The physical environment and primary productivity of the Gulf of California, 555-567. En: Simoneit, B.R.T. & J.P. Dauphin (Eds.). *The Gulf and peninsular province of the Californias*. American Association of Petroleum Geologists. Memoirs No. 47. Oklahoma. 834 p.
- Álvarez-Borrego, S. & R.A. Schwartzlose. 1979. Masas de agua del Golfo de California. *Ciencias Marinas*. 6:43-63.
- Ambrose, S.H. & M.J. DeNiro. 1986. The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia*. 69:395-406.
- Aubin, D.J.St., T.G. Smith & J.R. Geraci. 1990. Seasonal epidermal molt in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Can. J. Zool.* 68(2):359-367.
- Aurioles-Gamboa, D., S. Luque, F. García-Rodríguez, D. Brousset, A. Parás, J. Montaña, R. Rosiles, S. Aguíñiga, K. Acevedo & F. Elorriaga-Verplancken. 2002. Exploración de variables biológicas y ecológicas de las poblaciones de lobo marino (*Zalophus californianus*) del Golfo de California: Regionalización para el manejo. En: *Memorias de XXVII Reunión internacional para el estudio de los mamíferos marinos*. Veracruz, Ver. México. 70 pp.
- Baker A. de C., B.P. Boden & E. Brinton. 1990. *A practical guide to the euphausiids of the world*. Natural History Museum. London. 96 p.

- Best, P.B. & D.M. Schell. 1996. Stable isotopes in southern right whale (*Eubalaena australis*) baleen as indicators of seasonal movements, feeding and growth. *Mar. Biol.* 124:483-494.
- Boutton, T.W. 1991. Stable carbon isotope ratios of natural materials: 1. Samples preparation and mass spectrometric analysis, 173-185. En: Coleman, D. & B. Fry (Eds.). *Carbon isotope techniques*. Academic Press. Nueva York. 274 p.
- Brinton, E. & A.W. Townsend. 1980. Euphausiids in the Gulf of California, the 1957 cruises. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.* 21:211-236.
- Brinton, E., M.D. Ohman, A.W. Townsend, M.D. Knight & A.L. Bridgeman. 2000. *Euphausiids of the World Ocean*. World Biodiversity Database CD-ROM Series. Springer-Verlag, Berlin. ~600 MB.
- Brown, W.R., J.R. Geraci, B.D. Hicks, D.J. St. Aubin & J.P. Schroeder. 1983. Epidermal cell proliferation in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Can. J. Zool.* 61:1587-1590.
- Burton, R. & P. Koch. 1999. Isotopic tracking of foraging and long-distance migration in northeastern Pacific pinnipeds. *Oecologia.* 119:578-585.
- Calambokidis, J., G.H. Steiger, J.C. Cubbage, K.C. Balcomb, C. Ewald, S. Kruse, R. Wells & R. Sears. 1990. Sightings and movements of blue whales off Central California 1986-1988 from photoidentification of individuals. *Rep. Int. Whal. Commn., Spec. Iss.* 12:343-348.
- Calambokidis, J., R. Sears, G.H. Steiger & J. Evenson. 1995. Movement and stock structure of blue whales in the Eastern North Pacific. *Resumen* en: 11th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals. Orlando, Florida.
- Chandler, T.E., J. Calambokidis & K. Rasmussen. 1999. Population identity of blue whales on the Costa Rica Dome. *Resumen* en: 13th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals. Maui, Hawaii.

- Codron, D., J. Codron, J.A. Lee-Thorp, M. Sponheimer & D. de Ruiter. Animal diets in the Waterberg based on stable isotopic composition of faeces. *S. Afr. J. Wildl. Res.* 35(1):43-52.
- Cornie, A.P. & H.P. Schwarcz. 1996. Effects of climate on deer bone $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$: lack of precipitation effects on $\delta^{15}\text{N}$ for animal consuming low amounts of C_4 plants. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 60:4161-4166.
- Das, K., G. Lepoint, V. Loizeau, V. Debacker, P. Dauby & J. Bouquegneau. 2000. Tuna and dolphin associations in the northeast Atlantic: evidence of different ecological niches from stable isotope and heavy metal measurements. *Mar. Poll. Bull.* 40(2):102-109.
- De la Torre, J.C. 1983. *Biological actions and medical applications of dimethyl sulfoxide*. Annals of the New York Academy of Sciences. Nueva York. 404 p.
- 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. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., Mexico. 73 p.
- DeNiro, M.J. & S. Epstein. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 42:495-506.
- Donovan, G.P. 1991. A review of IWC stock boundaries. *Rep. Int. Whal. Commn., Spec. Iss.* 13:39-68.
- Durazo, R., G. Gaxiola-Castro, B. Lavaniegos, R. Castro-Valdez, J. Gómez-Valdés & A.D.S. Mascarenhas Jr. 2005. Oceanographic conditions west of the Baja California coast, 2002–2003: A weak El Niño and subarctic water enhancement. *Ciencias Marinas.* 31(3):537-552.

- Fiedler, P.C., S.B. Reilly, R.P. Hewitt, D. Demer, V.A. Philbrick, S. Smith, W. Armstrong, D.A. Croll, B.R. Tershy & B.R. Mate. 1998. Blue whale habitat and prey in the California Channel Islands. *Deep-Sea Res. PT II.* 45:1781-1801.
- Figueroa, J.M.R., S.G. Marinone & M.F. Lavín. 2003. Geostrophic gyres in the southern Gulf of California, 237-256. En: Velasco Fuentes, O.U., J. Sheinbaum & J.L. Ochoa de la Torre (Eds.). *Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Amsterdam. 388 p.
- Fogel, M.F., N. Tuross & D.W. Owsley. 1989. Nitrogen isotope tracers of human lactation in modern and archeological populations, 111-117. En: *Annual Report Geophysical Laboratory, Carnegie Institution 1988-1989*. Geophysical Laboratory, Carnegie Institution. Washington, D.C. numero de p.
- Forney, K.A., J. Barlow, M.M. Muto, M. Lowry, J. Baker, G. Cameron, J. Mobley, C. Stinchcomb & J.V. Carretta. 2000. *U.S. Pacific marine mammal stock assessments: 2000*. U.S. Dept. of Commer., NOAA Tech. Memo. NOAA-TM-NMFS-SWFSC-300. 276 p.
- Fry, B. & C. Arnold. 1982. Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). *Oecologia*. 54:200-204.
- Gannes, L.Z., C. Martínez del Río & P. Koch. 1998. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. *Comp. Biochem. Physiol.* 119A(3):725-737.
- Gannes, L.Z., D.M. O'Brien & C. Martínez del Río. 1997. Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology*. 78(4):1271-1276.
- Gaskin, D.E. 1982. *The ecology of whales and dolphins*. Heinemann Educational Books. Londres o London and Portsmouth, Newhampshire. 459 p.

- Gearing, J.N., P.J. Gearing, D.T. Rudnick, A.G. Requejo & M.J. Hutchins. 1984. Isotopic variability of organic carbon in a phytoplankton-based temperate estuary. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 48:1089-1098.
- Gendron, D. 1992. Population structure of daytime surface swarms of *Nyctiphanes simplex* (Crustacea, Euphausiacea) in the Gulf of California, Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 87:1-6.
- Gendron, D. 2002. Ecología poblacional de la ballena azul, *Balaenoptera musculus*, de la península de Baja California. Tesis de Doctorado. CICESE. Ensenada, B.C., México. 112 p.
- Gendron, D., S. Aguñiga & J.D. Carriquiry. 2001. $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ in skin biopsy samples: a note on their applicability for examining the relative trophic level in three rorqual species. *J. Cetacean Res. Manage.* 3(1):41-44.
- Gendron, D. & S.L. Mesnick. 2001. Sloughed skin: a method for the systematic collection of tissue samples from Baja California blue whales. *J. Cetacean Res. Manage.* 3(1):77-79.
- Geraci, J.R., D.J. St. Aubin & B.D. Hicks. 1986. 1. The epidermis of odontocetes: a view from within, 3-21. En: Bryden, M.M. & R.J. Harrison (Eds). *Research on dolphins: part 1: Anatomy and physiology*. Clarendon Press. Oxford. 400 p.
- Giacometti, L. 1967. The skin of the whale *Balaenoptera physalus*. *Anat. Rec.* 159:69-76.
- Ham, A.W. 1974. *Tratado de histología*. Editorial Interamericana. México. 935 p.
- Harrison, R.J. 1974. *Functional anatomy of marine mammals-Volume 2*. Academic press. Inglaterra. 366 p.

- Harrison, R.J. & K.W. Thurley. 1974. Structure of the epidermis in *Tursiops*, *Delphinus*, *Orcinus* and *Phocoena*, 44-71. En: Harrison, R.J. (Ed.). *Functional Anatomy of Marine Mammals-Volume 2*. Academic Press. Inglaterra. 366 p.
- Hicks, B.D., D.J.St. Aubin, J.R. Geraci & W.R. Brown. 1985. Epidermal growth in the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*. *J. Invest. Dermatol.* 85(1):60-63.
- Hobson, K.A. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia.* 120:314-326.
- Hobson, K.A., B.N. McLellan & J.G. Woods. 2000. Using stable carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotopes to infer trophic relationships among black and grizzly bears in the upper Columbia River basin, British Columbia. *Can. J. Zool.* 78:1332-1339.
- Hobson, K.A. & J.L. Sease. 1998. Stable isotope analyses of tooth annuli reveal temporal dietary records: an example using Steller sea lions. *Mar. Mammal Sci.* 14:116-129.
- Hobson, K.A., J.F. Piatt & J. Pittocchelli. 1994. Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. *J. Anim. Ecol.* 63:786-798.
- Hobson, K.A., R.T. Alisauskas & R.G. Clark. 1993. Stable nitrogen isotope enrichment in avian tissue due to fasting and nutritional stress: implications for isotopic analyses of diet. *Condor.* 95:388-394.
- Hofmann, E., A.J. Busalacchi & J.J. O'Brien. 1981. Wind generation of the Costa Rica Dome. *Science.* 214:552-554.
- Hooker, S.K., S.J. Iverson, P. Ostrom & S.C. Smith. 2001. Diet of northern bottlenose whales inferred from fatty-acid and stable-isotope analyses of biopsy samples. *Can. J. Zool.* 79:1442-1454.

- Jaume-Schinkel, S. 2004. Hábitos alimentarios del rorcual común *Balaenoptera physalus* en el Golfo de California mediante el uso de isótopos estables de nitrógeno y carbono. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., Mexico. 85 p.
- Jenkins, S.G., S.T. Partridge, T.R. Stephenson, S.D. Farley & C.T. Robbins. 2001. Nitrogen and carbon isotope fractionation between mothers, neonates, and nursing offspring. *Oecologia*. 129:336-341.
- Jiménez, A., S.G. Marinone y A. Parés-Sierra. 2005. Efecto de la variabilidad espacial y temporal del viento sobre la circulación en el Golfo de California. *Ciencias Marinas*. 31(2):357–368.
- Juillet-Leclerc, A. & H.J. Schrader. 1987. Variations of upwelling intensity recorded in varved sediment from the Gulf of California during the past 3,000 years. *Nature*. 329:146-149.
- Kaehler, S. & E.A. Pakmov. 2001. Effects of storage and preservation on the $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ signatures of selected marine organisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 219:299-304.
- Kahru, M., S.G. Marinone, S.E. Lluch-Cota, A. Parés-Sierra & B.G. Mitchell. 2004. Ocean-color variability in the Gulf of California: scales from days to ENSO. *Deep-Sea Res. PT II*. 51:139–146.
- Kelly, F.J. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can. J. Zool.* 78(1):1-27.
- Kieckhefer, T.R., J. Calambokidis, G.H. Steiger & N.A. Black. 1995. Prey of humpback and blue whales off California based on identification of hard parts in feces. *Resumen en: 11th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals*, Orlando, Flo.

- Lavín, M.F. & S.G. Marinone. 2003. An overview of the physical oceanography of the central Gulf of California, 173-204. En: Velasco-Fuentes, O.U., J. Sheinbaum & J. L. Ochoa de la Torre (Eds.). *Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Amsterdam. 388 p.
- Lee, S.H., D.M. Schell, T.L. McDonald & W.J. Richardson. 2005. Regional and seasonal feeding by bowhead whales *Balaena mysticetus* as indicated by stable isotope ratios. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 285:271-287.
- Ling, J.K. 1974. The integument of marine mammals, 1-43. En: Harrison, R.J. (Ed.). *Functional Anatomy of Marine Mammals-Volume 2*. Academic Press. Inglaterra. 366 p.
- Lluch-Cota, S.E., E.A. Aragón-Noriega, F. Arreguín-Sánchez, D. Auriol-Gamboa, J.J. Bautista-Romero, R.C. Brusca, R. Cervantes-Duarte, R. Cortés-Altamirano, P. Del-Monte-Luna, A. Esquivel-Herrera, G. Fernández, M.E. Hendrickx, S. Hernández-Vázquez, H. Herrera-Cervantes, M. Kahru, M.F. Lavín, D. Lluch-Belda, D.B. Lluch-Cota, J. López-Martínez, S.G. Marinone, M.O. Nevárez-Martínez, S. Ortega-García, E. Palacios-Castro, A. Parés-Sierra, G. Ponce-Díaz, M. Ramírez-Rodríguez, C.A. Salinas-Zavala, R.A. Schwartzlose & A.P. Sierra-Beltrán. 2007. The Gulf of California: review of ecosystem status and sustainability challenges. *Prog. Oceanogr.* 73:1-26.
- Lockyer, C.H. & S.G. Brown. 1981. The migration of whales, 105-137. En: Aidley, D.J. (Ed.). *Animal migration, Society and Experimental Biology Seminar Series 13*. Cambridge University Press. Amsterdam. 264 p.
- Marinone, S.G. 2003. A three dimensional model of the mean and seasonal circulation of the Gulf of California. *J. Geophys. Res.* 108(C10):3325.
- Mate, B.R., B.A. Lagerquist & J. Calambokidis. 1999. Movements of North Pacific blue whales during the feeding season off southern California and their southern fall migration. *Mar. Mammal Sci.* 15:1246-1257.

- Mauchline, A.C. 1980. The biology of mysids and euphausiids. *Adv. Mar. Biol.* 18:681.
- McDonald, M.A., S.L. Mesnick & J.A. Hildebrand. 2006. Biogeographic characterisation of blue whale song worldwide: using song to identify populations. *J. Cetacean Res. Manage.* 8(1):55-65.
- Mejía-Acosta, S.J. 2003. Dieta de la ballena azul *Balaenoptera musculus* (Cetacea: Balaenopteridae) en aguas adyacentes a la península de Baja California, con base en el análisis del contenido fecal. Tesis de Licenciatura. UABC. Ensenada, B.C., México. 57 p.
- Miller, T.W. 2006. Trophic dynamics of marine nekton and zooplankton within the northern California Current pelagic ecosystem. Tesis de doctorado. Oregon State University. Oregon, E.U.A. 196 p.
- Nemoto, T. 1957. Foods of baleen whales in the Northern Pacific. *Sci. Rep. Whales Res. Inst. Tokyo.* 12:33-89.
- Nemoto, T. 1959. Food of baleen whales with reference to whale movements. *Sci. Rep. Whales Res. Inst. Tokyo.* 14:149-290.
- Nemoto, T. 1970. Feeding patterns of baleen whales in the ocean, 241-252. En: Steele, J.H. (Eds). *Marine Food Chains*. University of California Press. Berkeley, California. 552 p.
- O'Reilly, C.M., R.E. Hecky, A.S. Cohen & P.D. Plisnier. 2002. Interpreting stable isotopes in food webs: recognizing the role of time averaging at different trophic levels. *Limnol. Oceanogr.* 47(1):306-309.
- Paré, J., J. Bélanger & S. Stafford. 1994. Microwave-assisted process (MAPTM): A new tool for the analytical laboratory. *Trends. Anal. Chem.* 4:176-184.

- Parés-Sierra, A., A.D.S. Mascarenhas Jr., S.G. Marinone & R. Castro. 2003. Temporal and spatial variation of the surface winds in the Gulf of California. *Geophys. Res. Lett.* 20(6):1312.
- Peña-Manjarrez, J.L., J. Helenes, G. Gaxiola-Castro & E. Orellana-Cepeda. 2005. Dinoflagellate cysts and bloom events at Todos Santos Bay, Baja California, México, 1999–2000. *Cont. Shelf Res.* 25:1375-1393.
- Pfeiffer, C.J. & F.M. Jones. 1993. Epidermal lipid in several cetacean species: ultrastructural observations. *Anat. Embryol.* 188(3):209-218.
- Post, D.M, C.A. Layman, D.A. Arrington, G. Takimoto, J. Quattrochi & C.G. Montana. 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia.* 152:179-189.
- Rau, G.H., M.D. Ohman & A. Pierrot-Bults. 2003. Linking nitrogen dynamics to climate variability off central California: 51 year record based on $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ in CalCOFI zooplankton. *Deep-Sea Res. PT II.* 50:2431–2447.
- Rau, G.H., R. H. Sweeney & I. R. Kaplan. 1982. Plankton $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ ratio changes with latitude: differences between northern and southern ocean. *Deep-Sea Res.* 29:1035-1039.
- Reeves, R.R., P.J. Clapham, R. L. Brownell Jr. & G. K. Silber. 1998. *Recovery plan for the blue whale (Balaenoptera musculus)*. Office of Protected Resources, NMFS, NOAA, Silver Spring, Maryland. 30 p.
- Reid, J.L.Jr., G.I. Roden & J.G. Wyllie. 1958. Studies of the California Current system. *Calif. Coop. Oceanic Fisheries Invest. Rep.* 6:27-56.
- Reilly, S.B. & V.G. Thayer. 1990. Blue whale (*Balaenoptera musculus*) distribution in the Eastern Tropical Pacific. *Mar. Mammal Sci.* 6(4):265-277.

- Rice, D.W. 1986. Blue whale, 4-45. En: Hakey, D. (Ed.). *Marine mammals of the eastern North Pacific and Arctic waters*. Second Edition. Pacific Search Press. Seattle, Washington. 256 p.
- Rice, D.W. 1992. The blue whales of the southeastern North Pacific Ocean. *AFSC Quarterly Report*, Oct-Nov-Dec 1992, Alaska Fisheries Science Center, Seattle, Washington. 1-3 p.
- Ritz, D.A., G. W. Hosie & R.J. Kirkwood. 1990. Diet of *Nyctiphanes australis* Sars (Crustacea : Euphausiacea). *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 41:365-74.
- Roden, G.I. 1964. Oceanographic aspects of the Gulf of California, 30-58. En: Van Andel, T.H. y G.S. Shore (Eds.). *A symposium: Marine Geology of the Gulf of California*. American Association of Petroleum Geologists Memoirs No. 3. Wisconsin. 408 p.
- Roden, G.I. 1971. Large-scale upwelling off northwestern Mexico. *J. Phys. Oceanogr.* 2:184-189.
- Roden, G.I. & G.W. Groves. 1959. Recent oceanographic investigations in the Gulf of California. *J. Mar. Res.* 18(1):10-35.
- Rueda-Flores, M. 2007. Variabilidad de perfiles de ácidos grasos entre sexos y grupos de edad en *Balaenoptera musculus* del Golfo de California. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., Mexico. 65 p.
- Ruiz-Cooley, R.I., D. Gendron, S. Aguñiga, S. Mesnick & J.D. Carriquiry. 2004. Trophic relationships between sperm whales and jumbo squid using stable isotopes of C and N. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 277:275-283.
- Sarakinos, H.C., M.L. Johnson & M.J. Vander Zanden. 2002. A synthesis of tissue-preservation effects on carbon and nitrogen stable isotope signatures. *Can. J. Zool.* 80:381-387.

- Schell, D.M., B. Barnett & K. Vinette. 1998. Carbon and nitrogen isotope ratios in zooplankton of the Bering, Chukchi and Beaufort Seas. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 162:11-23.
- Schell, D.M., S.M. Saupe & N. Haubenstock. 1989. Bowhead whale (*Balaena mysticetus*) growth and feeding as estimated by $\delta^{13}\text{C}$ techniques. *Mar. Biol.* 103:433-443.
- Schoenherr, J.R. 1991. Blue whales feeding on high concentrations of euphausiids around Monterey Submarine Canyon. *Can. J. Zool.* 69:583-594.
- Schrader, H.J. & T. Baumgartner. 1983. Decadal variation of upwelling in the central Gulf of California, 247-276. En: Thiede, J. & E. Suess (Eds.). *Coastal upwelling: its sediment record (part B)*. NATO Conference Series. IV Marine Sciences. Nueva York. 610 p.
- Sears, R. 1987. The photographic identification of individual blue whales (*Balaenoptera musculus*) in the Sea of Cortez. *Cetus*. 7(1):14-17.
- Sheehan, D.C. & B.B. Hrapchak. 1973. *Theory and practice of histotechnology*. Mosby Company. Inglaterra. 481 p.
- Sierzen, M.E., J.R. Keough & C.A. Hagley. 1996. Trophic analysis of ruffe (*Gymnocephalus cernuus*) and white perch (*Morone americana*) in a Lake Superior coastal food web, using stable isotopes techniques. *J. Great Lakes Res.* 22:436-443.
- Sokolov, W. 1960. Some similarities and dissimilarities in the structure of the skin among members of the suborders Odontoceti and Mysticoceti (Cetacea). *Nature*. 185:745-747.
- Stafford, K.M., S.L. Niekirk & C.G. Fox. 2001. Geographic and seasonal variation of blue whale calls in the North Pacific. *J. Cetacean Res. Manage.* 3:65-76.

- Sydeman, W.J., K.A. Hobson, P. Pyle & E.B. McLaren. 1997. Trophic relationships among seabirds in Central California: combined stable isotope and conventional dietary approach. *The Condor*. 99:327-336.
- Tieszen, L.L., T.W. Boutton, K.G. Tesdahl & N.A. Slade. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia*. 57:32-37.
- Todd, S., P. Ostrom, J. Lien & J. Abrajano. 1997. Use of biopsy samples of humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) skin for stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$) determination. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 22:71-76.
- Torres-Orozco, E. 1993. Análisis volumétrico de las masas de agua del Golfo de California. Tesis de Maestría. CICESE. Ensenada, B.C., México. 79 p.
- Ugalde de la Cruz, A. 2005. Descripción y cambios a través del tiempo de las marcas naturales en ballenas azules fotografiadas alrededor de la península de Baja California. Tesis de Licenciatura. UAEM. Cuernavaca, Morelos. 65 p.
- Unkovich, M., J. Pate, A. McNeill & D.J. Gibbs. 2001. *Stable isotope techniques in the study of biological processes and functioning of ecosystems*. Kluwer Academic Publishers. Holanda. 288 p.
- Vander Zanden, M.J. & J.B. Rasmussen. 2001. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnol. Oceanogr.* 46(8):2061-2066.
- Voss, M., J.W. Dippner & J.P. Montoya. 2001. Nitrogen isotope patterns in the oxygen-deficient waters of the Eastern Tropical North Pacific Ocean. *Deep-Sea Res. PT I*. 48:1905-1921.
- Wang, J.Y. 2002. Stock Identity, 1189-1185. En: Perrin, W.F., B. Würsig & J.G.M. Thewissen. *Encyclopedia of Marine Mammals*. E.U.A. 1414 p.

Walker, J., C. Potter & S. Macko. 1999. The diets of modern and historic bottlenose dolphins populations reflected through stable isotopes. *Mar. Mammal Sci.* 15(2):335-350.

Zaytsev, O., R. Cervantes-Duarte, O. Montante & A. Gallegos-Garcia. 2002. Coastal Upwelling Activity on the Pacific Shelf of the Baja California Peninsula. *J. Oceanogr.* 59(4):489-502.

Zeitzschel, B. 1969. Primary productivity in the Gulf of California. *Mar. Biol.* 3:201-207.

11. ANEXOS

Anexo I. Muestras de piel descamada y piel obtenida de biopsias colectada en el Golfo de California (GC) y en la costa occidental del estado de Baja California (COBJ).

Muestra	Ballena en catalogo	Piel descamada	Piel de biopsia	Lugar de colecta	Año
LO-03-008	425	0	1	GC	2003
LO-03-010	131	0	1	GC	2003
LO-03-015	445	0	1	GC	2003
180	267	0	1	GC	1999
187	267	0	1	GC	1999
202	282	0	1	GC	1999
214	282	0	1	GC	1999
355	391	0	1	GC	2002
357	391	0	1	GC	2002
377	131	0	1	GC	2003
378	419	0	1	GC	2003
379	420	0	1	GC	2003
381	059	0	1	GC	2003
397	425	0	1	GC	2003
398	445	0	1	GC	2003
415	454	0	1	GC	2004
416	050	0	1	GC	2004
417	455	0	1	GC	2004
418	251	0	1	GC	2004
450	458	0	1	GC	2005
451	124	0	1	GC	2005
452	479	2	0	GC	2005
453	099	2	1	GC	2005
454	477	2	0	GC	2005
456	451	0	1	GC	2005
457	478	1	1	GC	2005
459	127	2	1	GC	2005
460	127	2	0	GC	2005
461	007	0	1	GC	2005
462	303	0	1	GC	2005
463	012	2	1	GC	2005
465	508	0	1	GC	2005
466	46 o 487	2	0	GC	2005
467	519	2	0	GC	2005
468	487 o 488	2	0	GC	2005
470	491	0	1	GC	2005
471	396	0	1	GC	2005

Continuación Anexo I...

Muestra	Ballena en catalogo	Piel descamada	Piel de biopsia	Lugar de colecta	Año
472	482	0	1	GC	2005
473	492	0	1	GC	2005
474	519	0	1	GC	2005
475	494	0	1	GC	2005
476	517	0	1	GC	2005
478	482	0	1	GC	2005
479	251	0	1	GC	2005
480	484	0	1	GC	2005
481	486	0	1	GC	2005
482	501	2	1	GC	2005
483	520	0	1	GC	2005
484	175	2	1	GC	2005
485	499	0	1	GC	2005
486	498	0	1	GC	2005
488	506	0	1	GC	2005
489	505	0	1	GC	2005
490	499	0	1	GC	2005
491	502	2	1	GC	2005
492	503	0	1	GC	2005
493	223	1	0	GC	2006
494	119	2	0	GC	2006
495	458	2	0	GC	2006
496	223	1	0	GC	2006
497	223	2	0	GC	2006
498	127	1	0	GC	2006
499	451	2	0	GC	2006
501	253	0	1	GC	2006
503	189	0	1	GC	2006
504	127	1	0	GC	2006
505	523	1	1	GC	2006
509	523	1	0	GC	2006
514	00X	1	0	GC	2006
515	111	6	0	GC	2006
517	451	2	0	GC	2006
519	060	1	0	GC	2006
521	0JJ	1	0	GC	2006
522	430	1	0	GC	2006
525	179	2	0	GC	2006
526	127	1	0	GC	2006
538	451	2	0	GC	2006

Continuación Anexo I...

Muestra	Ballena en catalogo	Piel descamada	Piel de biopsia	Lugar de colecta	Año
540	004	6	0	GC	2006
540p2	ZZZ	3	0	GC	2006
541	195	5	0	GC	2006
542	060	2	0	GC	2006
543	184	2	0	GC	2006
545	379	1	0	GC	2006
546	NNN	0	1	GC	2006
547	NNN	0	1	GC	2006
548	NNN	0	1	GC	2006
549	454	1	1	GC	2006
550	346	0	1	GC	2006
551	DDD	4	1	GC	2006
552	408	1	1	GC	2006
554	III	1	1	GC	2006
555	JJJ	1	1	GC	2006
557	SSS	1	1	GC	2006
558	079	2	0	GC	2006
559	CCC, RRR	1	0	GC	2006
560	CCC, RRR	1	0	GC	2006
562	OOO o TT	0	1	GC	2006
563	065	1	0	GC	2006
565	A2 o 473	2	1	GC	2006
566	473	0	1	GC	2006
567	A3	0	1	GC	2006
579	124	2	1	GC	2007
599	383	1	1	GC	2007
600	OOO	0	1	GC	2007
601	119	0	1	GC	2007
603	Y	0	1	GC	2007
606	III	1	1	GC	2007
609	959	0	1	GC	2007
611	O.2006.523	1	0	GC	2007
612	FF	1	1	GC	2007
614	223	1	1	GC	2007
618	JJJ	0	1	GC	2007
619	DDD	0	1	GC	2007
622	EEE	0	1	GC	2007
623	FFF	0	1	GC	2007
624	QQ	0	1	GC	2007
626	RR	0	1	GC	2007

Continuación Anexo I...

Muestra	Ballena en catalogo	Piel descamada	Piel de biopsia	Lugar de colecta	Año
627	065	0	1	GC	2007
568	E-1	1	0	COBJ	2006
570	E-3	1	0	COBJ	2006
571	E-4	1	0	COBJ	2006
572	E-5	1	0	COBJ	2006
574	E-7	1	0	COBJ	2006
575	E-8	1	0	COBJ	2006
576	E-9	1	0	COBJ	2006
577	E-10	1	0	COBJ	2006
578	E-11	1	0	COBJ	2006

Anexo II. Muestras de eufáusidos (*N. simplex*) colectados en el Norte (NGC) y Sur (SGC) del Golfo de California.

Muestra	Latitud	Longitud	Región	Año
EU-1	29.98333333	-113.2168056	NGC	2006
EU-2	29.98333333	-113.2833333	NGC	2006
EU-3	29.98333333	-113.2833333	NGC	2006
EU-4	30.25	-113.5	NGC	2006
EU-5	24.9	-110.6500278	SGC	2006
EU-6	24.88344444	-110.5001389	SGC	2006
EU-7	25.31683333	-110.9169167	SGC	2006
EU-8	25.0167222	-110.7168611	SGC	2005
EU-9	25.8167806	-111.2335056	SGC	2005
EU-10	26.36678444	-109.8168714	SGC	2005
EU-11	26.58347361	-111.3833667	SGC	2005
EU-12	25.60019278	-110.9667017	SGC	2005
EU-13	24.58355556	-108.8835833	SGC	2005
EU-14	27.31669444	-111.3166833	SGC	2005
EU-15	26.01691667	-110.3666861	SGC	2005
EU-16	25.60019278	-110.9667017	SGC	2005

Anexo III. Muestras de heces fecales colectadas de ballenas azules en el Golfo de California.

Muestra	Latitud	Longitud	Año
HF11	25.5167500	-110.950083	2007
HF10	25.6001111	-111.033472	2007
HF9	25.6167639	-111.050058	2007
HF8	25.6001139	-111.033472	2007
HF7	25.6167639	-111.050058	2007
HF6	24.7668333	-110.583333	2002
HF5	24.7668333	-110.583333	2002
HF4	24.7668889	-110.533333	2002
HF3	24.5333889	-110.450139	2002
HF2	24.5333889	-110.450139	2002
HF1	24.5333889	-110.450139	2002

Anexo IV. Diferencias entre el $\delta^{15}\text{N}$ de piel descamada de ballena azul preservada en congelado (control) y en dimetil sulfóxido.

Muestra	Meses de preservación	$\delta^{15}\text{N}$ -Congelado	$\delta^{15}\text{N}$ -DMSO	Diferencias Congelado vs. DMSO	Año
452	8	12.01	11.45	0.56	2005
453	8	13.02	12.87	0.15	2005
454	8	14.32	14.34	0.02	2005
460	7	13.82	13.82	0.00	2005
463	7	14.59	14.56	0.04	2005
466	7	12.90	12.89	0.01	2005
467	7	12.35	12.51	0.16	2005
468	7	12.61	12.83	0.23	2005
469	7	12.89	12.99	0.10	2005
482	6	15.27	15.34	0.07	2005
484	6	14.16	14.16	0.01	2005
491	6	14.27	13.76	0.51	2005
494	8	14.40	14.48	0.08	2006
495	8	15.05	15.11	0.06	2006
497	8	13.60	13.84	0.23	2006
499	8	13.61	13.70	0.09	2006
517	7	14.84	14.86	0.03	2006
540	7	14.97	14.46	0.51	2006
541	7	15.09	15.06	0.03	2006
542	7	14.62	14.66	0.04	2006
543	6	15.03	15.03	0.00	2006
551	6	14.54	14.81	0.26	2006
558	6	14.80	14.91	0.11	2006

Anexo V. Diferencias entre el $\delta^{13}\text{C}$ de piel descamada de ballena azul preservada en congelado (control) y en dimetil sulfóxido.

Muestra	Meses de preservación	$\delta^{13}\text{C}$- Congelado	$\delta^{13}\text{C}$- DMSO	Diferencias Congelado vs. DMSO	Año
452	8	-16.82	-17.21	0.39	2005
453	8	-16.46	-16.41	0.05	2005
454	8	-16.72	-16.85	0.13	2005
460	7	-16.23	-16.30	0.07	2005
463	7	-17.30	-17.44	0.14	2005
466	7	-15.77	-16.63	0.86	2005
467	7	-15.69	-15.96	0.27	2005
468	7	-16.56	-16.50	0.06	2005
469	7	-17.11	-17.31	0.20	2005
482	6	-17.64	-17.62	0.02	2005
484	6	-17.92	-17.90	0.02	2005
491	6	-16.21	-16.36	0.15	2005
494	8	-17.15	-17.50	0.35	2006
495	8	-17.24	-17.11	0.13	2006
497	8	-15.66	-15.67	0.00	2006
499	8	-18.07	-16.87	1.19	2006
517	7	-17.20	-16.90	0.30	2006
540	7	-16.28	-16.69	0.40	2006
541	7	-17.50	-17.30	0.20	2006
542	7	-16.76	-16.61	0.16	2006
543	6	-16.90	-16.79	0.11	2006
551	6	-16.82	-16.77	0.05	2006
558	6	-16.15	-16.05	0.11	2006