

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE
ENSENADA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
EN ECOLOGÍA MARINA**

**EVALUACIÓN DEL USO DE ISÓTOPOS ESTABLES PARA DOCUMENTAR LA
INMIGRACIÓN ESTUARINA DE JUVENILES DE *PARALICHTHYS*
CALIFORNICUS AL ESTERO DE PUNTA BANDA**

TESIS

que para cubrir parcialmente el requisito necesario para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

Clarisa Amalia Rendón Ibarra

Ensenada, Baja California, México, Junio de 2005

TESIS DEFENDIDA POR
Clarisa Amalia Rendón Ibarra
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ

Dra. Sharon Herzka Llona
Director del Comité

Dr. Saúl Álvarez Borrego
Miembro del Comité

Dr. Juan Pablo Lazo Corvera
Miembro del Comité

Dr. Juan Carlos Herguera García
Coordinador del programa de
posgrado en Ecología Marina

Dr. Raúl Ramón Castro Escamilla
Director de Estudios de Posgrado

10 de Junio de 2005

DEDICATORIA

Dedico esta tesis con mucho cariño a las personas más importantes en mi vida:

A DIOS por haberme dado unos padres y tres hijos maravillosos, y por haberme permitido aprender de mis aciertos y mis errores.

A MIS HIJOS Daniel, Stephania y Dennis y a mi sobrina Eira por que ellos me han enseñado a apreciar las cosas más sencillas de la vida y porque son una luz en mi camino. Los amo inmensamente.

A MI ESPOSO Rolando por su gran apoyo, por su comprensión, por haber compartido conmigo este sueño, por ser mi compañero y el padre de mis hijos.

A MIS PADRES: Patrocinia Ibarra Rodríguez y Manuel Rendón Morales por su inmenso amor, por darme su ejemplo para conseguir mis metas, por enseñarme que la perseverancia nos permite alcanzar nuestros objetivos y sobre todo por darme la vida.

A MIS HERMANOS: Brenda Y Juan por su cariño hacia mi y hacia mis hijos, por sus palabras de aliento en momentos difíciles.

AGRADECIMIENTOS

A mi Directora **Dr. Sharon Herzka Llona**, por su apoyo académico.

A mi comité de tesis: **Dr. Juan Pablo Lazo Corvera y Saúl Álvarez Borrego** por sus comentarios para el mejoramiento de este proyecto.

Un agradecimiento especial al **Dr. Juan Pablo Lazo Corvera** por proporcionarnos los peces y las instalaciones del laboratorio de acuicultura para el desarrollo del experimento.

A la **Dr. Bertha Lavaniegos, Dr. Silvia Ibarra, Dr. Benjamín Barón** por facilitarme su equipo.

Al **Dr. Oscar Sosa Nishizaki, Carmen Rodríguez** y a los miembros de su laboratorio por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por su alegría y su apoyo.

A mis mejores amigas **Sarita Frontana y Luz Hernández Leonel** por su apoyo y amistad.

A todos mis compañeros de generación **Eduardo, Mario, Julio, Rocio, Hector, Karina, Lorenzo, Rodrigo, Jonathan y Jorge** por su amistad.

Un agradecimiento especial para **Francisco, Flor, Sonia y Vanessa**, por su buena disposición para ayudarme y por su amistad.

A **CICESE** por las facilidades prestadas para la realización de mis estudio de Posgrado.

A **CONACYT** por el apoyo económico brindado durante el desarrollo de mi Maestría.

RESUMEN de tesis de Clarisa Amalia Rendón Ibarra presentado como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en ECOLOGIA MARINA., Ensenada, Baja California, Mayo del 2005.

EVALUACIÓN DEL USO DE ISOTOPOS ESTABLES PARA DOCUMENTAR LA INMIGRACIÓN ESTUARINA DE JUVENILES DE *PARALICHTHYS CALIFORNICUS* AL ESTERO DE PUNTA BANDA.

Resumen aprobado por:

Dra. Sharon Herzka Llona
Directora de tesis

El presente trabajo evaluó el uso de isótopos estables para documentar la inmigración estuarina de juveniles de lenguado de California (*Paralichthys californicus*) al Estero de Punta Banda, Baja California, México durante la estación de reclutamiento (primavera-otoño 2003). El uso de isótopos estables de carbono y nitrógeno como trazadores naturales de la inmigración estuarina de peces individuales se basa en la premisa de que la composición isotópica de las fuentes de alimento disponibles en zonas costeras y estuarinas es distinta, lo cual se refleja en los tejidos de individuos que se alimentan en cada hábitat. Por lo tanto, debe ser posible identificar individuos que recientemente han inmigrado de un hábitat costero a estuarino con base en su composición isotópica. Las razones isotópicas de carbono y nitrógeno de diversos componentes de las cadenas alimentarias que sustentan a juveniles en la Bahía de Todos Santos (hábitat costero) y el Estero de Punta Banda (hábitat estuarino) fueron evaluadas y comparadas con la composición de lenguados capturados en ambos hábitats. Además, se realizó un experimento bajo condiciones controladas de laboratorio para evaluar el patrón de cambio isotópico en los tejidos de lenguados sometidos a un cambio de dieta para evaluar la contribución relativa de crecimiento y el recambio metabólico al recambio isotópico. Lenguados juveniles con una longitud estándar promedio ($\pm$ DE) de 28.8 ± 2.7 mm fueron aclimatados a tres temperaturas (15, 18 y 24 °C) y forzados un cambio de dieta de nauplios de *Artemia* a misidáceos o krill congelado. La $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los individuos fueron evaluadas a través del tiempo y expresadas en función del incremento relativo en biomasa. El modelo empírico de Fry y Arnold (1982) fue empleado para estimar la contribución del crecimiento y recambio metabólico al patrón de cambio isotópico bajo cada temperatura. Posteriormente, se utilizaron tasas de crecimiento de poblaciones naturales obtenidas de la literatura para estimar el tiempo necesario para que juveniles de distintas tallas lleguen al equilibrio isotópico con nuevas fuentes de alimento luego de la inmigración estuarina.

Con excepción de la materia orgánica particulada (MOP), la cual mostró diferencias espaciales y temporales significativas entre zonas del Estero y épocas de muestreo, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y/o $\delta^{15}\text{N}$ fueron similares dentro de un mismo grupo de productores primarios. La MOP de la zona I, las plantas de humedal C-4 (específicamente *Spartina foliosa*), las macroalgas, pastos y epífitas pueden ser las principales fuentes de carbono para juveniles de lenguado de California en el Estero de Punta Banda, mientras que la MOP parece ser la base de la estructura trófica en la Bahía de Todos Santos. Con base en la composición isotópica de nitrógeno en productores y consumidores, y considerando un fraccionamiento promedio de aproximadamente 3 ‰ por nivel trófico (DeNiro y Epstein 1981), se pudieron establecer 3 niveles tróficos en el Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos. Los juveniles de lenguado de California colectados en el Estero de Punta Banda (hábitat estuarino) y en la Bahía de Todos Santos (hábitat costero) durante el otoño del 2003 exhibieron diferencias en los intervalos de valores en $\delta^{13}\text{C}$, lo cual sugiere que los isótopos estables de carbono pueden ser empleados como trazadores del reclutamiento estuarino de esta especie. Sin embargo, el traslape casi completo en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ la de los peces capturados dentro y fuera del estero indican que no es posible utilizar los isótopos estables del nitrógeno para evaluar el reclutamiento estuarino de juveniles del lenguado de California.

Durante los experimentos en el laboratorio, los peces alimentados con misidáceos crecieron adecuadamente, mientras que los provistos con krill no consumieron el alimento. Por lo tanto, se consideró que los peces alimentados con krill estuvieron expuestos a condiciones de inanición, y se evaluó el efecto de la falta de alimento sobre el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los tejidos. Dado que no se encontraron diferencias entre el $\delta^{15}\text{N}$ de *Artemia* y los misidáceos, sólo se pudo evaluar el patrón de recambio isotópico para el carbono, donde la diferencia entre las dietas fue de -9.3 ‰. La tasa de cambio isotópica fue más rápida a 24 que a 18 y 15° C, lo cual refleja diferencias en el patrón de crecimiento bajo las tres temperaturas. Los ajustes del modelo empírico de Fry y Arnold (1982) a los datos indicaron que el recambio isotópico se debió exclusivamente al crecimiento, y que el efecto del recambio metabólico no fue detectable bajo ninguna de las tres temperaturas. El período de tiempo estimado para que el tejido de juveniles refleje una nueva fuente de alimento fue de aproximadamente 37 días para peces de 10 mm L_E y 140 días para peces de 70 mm L_E . Un análisis de regresión simple fue empleado para evaluar los cambios en la composición isotópica de carbono y nitrógeno asociados a la inanición. No se encontraron cambios sustanciales en la composición isotópica de los tejidos de los juveniles de lenguado de California asociados al estrés nutricional.

Palabras Clave: *Paralichthys californicus*, peces, reclutamiento estuarino, isótopos estables.

ABSTRACT of the thesis presented by Clarisa Amalia Rendón Ibarra as partial requirement to obtain the MASTER OF SCIENCES degree in MARINE ECOLOGY. Ensenada, Baja California, May of 2005.

EVALUATION OF THE USE OF STABLE ISOTOPE RATIOS AS NATURAL TRACERS OF ESTUARINE IMMIGRATION OF JUVENILE CALIFORNIA HALIBUT (*PARALICHTHYS CALIFORNICUS*) TO THE ESTERO DE PUNTA BANDA.

Abstract approved by:

Dr. Sharon Herzka Llona
Thesis Director

This study evaluated the potential for using stable isotope ratio analysis to trace the estuarine immigration of juvenile California halibut (*Paralichthys californicus*) to the Punta Banda Estuary, Baja California, México, during the spring to autumn recruitment season of 2003. The use of the stable isotopes of carbon and nitrogen as natural tracers of estuarine immigration of individual fishes is based on the premise that the isotopic composition of the food sources available in coastal and estuarine habitat differs and is reflected in the tissues of fishes that feed and reside in each habitat. Hence, it is possible to identify recent immigrants based on their carbon or nitrogen isotope ratios. The isotopic ratios of various components of the food webs that potentially support juveniles in the Bahía de Todos Santos (coastal habitat) and Estero de Punta Banda (estuarine habitat) were evaluated and compared to the signatures of California halibut collected in both areas to determine if it is possible to use $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ as natural tracers of estuarine immigration. In addition, a laboratory experiment was performed to evaluate the pattern of isotopic change exhibited by juvenile California halibut subjected to an abrupt change in diet. Juveniles of mean standard length (LE) of 28.84 ± 2.7 mm (SD) were acclimated to three temperatures (15, 18 y 24 °C) and switched from *Artemia* nauplii to frozen mysid shrimp or krill. The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of individual fishes was evaluated through time and expressed as a function of their relative biomass increase. Fry and Arnold's (1982) empirical model was used to evaluate the relative contribution of growth and metabolic turnover to the isotopic changes exhibited at each temperature. Further, literature-based growth rates for natural populations were used to estimate the time necessary for individuals of various sizes to approximate isotopic equilibrium to new foods following estuarine immigration.

With the exception of particulate organic matter (POM), which exhibited significant spatial and temporal variation in its isotopic signatures, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of

primary producers within the same taxonomic group were consistent. POM, C-4 marsh plants (particularly *Spartina foliosa*), macroalgae, seagrass and epiphytes appear to support the food web on which juvenile California halibut depend within the Estero de Punta Banda. In contrast, POM (a proxy for phytoplankton) is probably the dominant source of carbon in the Bahía de Todos Santos. Based on $\delta^{15}\text{N}$ values of primary producers and consumers, and assuming a fraction of 3 ‰ per trophic level, the presence of three trophic levels were estimated for both systems. Juvenile California halibut collected in the Punta Banda Estuary and the Bahía de Todos Santo exhibited a different range of values in their carbon isotopic signatures. This suggests that it is possible to use $\delta^{13}\text{C}$ values to track estuarine immigration. However, there was almost a complete overlap in the nitrogen isotopic values of fishes collected in both habitats, which excludes $\delta^{15}\text{N}$ as an adequate tracer of estuarine immigration in this system.

During laboratory experiments, fishes fed mysids grew adequately, while those provided with frozen krill did not consume the food and hence failed to grow. Hence, I considered that fishes fed krill were subjected to starvation conditions and evaluated the effect of withholding food on tissue $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. Since there was no difference between the $\delta^{15}\text{N}$ of *Artemia* and the mysids, it was only possible to examine isotopic turnover using carbon isotope ratios (-9.3 ‰ difference between diets). Isotopic turnover was faster at 24 than 18 or 15 °C, which reflects the differences in growth observed at the three temperatures. Applying the empirical model to the isotopic data indicated that isotopic turnover was due exclusively to growth, and that metabolic turnover was not detectable. The estimated time required for juveniles to reach equilibrium to a new food source was 37 days for a 10 mm SL individual and 140 days for juveniles 70 mm SL. Regression analysis was used to evaluate the effect of starvation on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. There were no substantial changes in the isotopic composition of the juvenile California halibut tissues due to starvation, even though the fish lost weight during the experiment.

Keywords: *Paralichthys californicus*, fishes, recruitment, estuary, stable isotopes.

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1. Generalidades.....	1
I.2. Importancia pesquera e historia de vida de <i>Paralichthys californicus</i> ...	4
II. ANTECEDENTES	10
II. 1. Isótopos estables y su aplicación a estudios de reclutamiento estuarino	12
III. OBJETIVO GENERAL	18
III.1. Objetivos particulares.....	18
IV. HIPÓTESIS	20
V. METODOLOGÍA	21
V.1. Área de Estudio.....	21
V.2. Muestreo.....	23
V.3. Preparación de las muestras para el análisis isotópico.....	25
V.4. Experimento de Laboratorio.....	28
V.4.1. <i>Diseño Experimental</i>	28
V.4.2. <i>Análisis isotópicos</i>	32
V.5. Análisis estadístico de resultados.....	32
V.5.2. <i>Experimento de recambio isotópico</i>	32
V.5.3. <i>Experimento de inanición</i>	35
VI. RESULTADOS	36
VI. 1. Estructura de la red alimentaria.....	36
VI.1.1. <i>Productores primarios</i>	39
VI.1.2. <i>Consumidores</i>	45
VI.1.2.1. <i>Paralichthys californicus</i>	48
VI.2. Experimento de laboratorio.....	54
VI.2.1. <i>Experimento de recambio isotópico</i>	54
VI.2.1.1. <i>Contribución del crecimiento y recambio metabólico</i>	59
VI.2.1.2. <i>Estimación de la tasa de recambio isotópico</i>	63
VI.2.3. <i>Experimento de inanición</i>	66
VII. DISCUSIÓN	71
VII.1. Caracterización de las redes tróficas.....	71
VII.2. Uso de isótopos estables como trazadores de la inmigración estuarina.....	75
VII.3. Recomendaciones para futuros trabajos.....	77
VII.4. Experimento de laboratorio.....	78

<i>VII.4.1. Estimación de la tasa de recambio isotópico.....</i>	<i>79</i>
<i>VII.4.2. Fraccionamiento isotópico.....</i>	<i>84</i>
<i>VII.4.3. Experimento de inanición.....</i>	<i>85</i>
VIII. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	88

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Migración estuarina del lenguado de California (<i>Paralichthys californicus</i>).....	6
Figura 2. Modelo conceptual que muestra el cambio gradual en la composición isotópica de juveniles de lenguado al cambiar de un hábitat costero a uno estuarino.....	12
Figura 3. Mapa del área de estudio y sitios de muestreo en el Estero de Punta Banda.....	22
Figura 4. Valores promedio en la $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los productores primarios, invertebrados y peces que forman parte de la cadena alimentaria del Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos.....	42
Figura 5. $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ vs. longitud estándar (mm) y peso (gr) de juveniles de lenguado de California colectados en la Bahía de Todos Santos en otoño del 2003.....	49
Figura 6. $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ vs. longitud estándar (mm) y peso (gr) de juveniles de lenguado de California colectados en el Estero de Punta Banda en primavera del 2003.....	51
Figura 7. $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ vs. longitud estándar (mm) y peso (gr) de juveniles de lenguado de California colectados en el Estero de Punta Banda en otoño del 2003.....	52
Figura 8. Valores promedio en la $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de productores primarios, invertebrados, peces (otras especies) y <i>Paralichthys californicus</i> que forman parte de la cadena alimentaria del Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos.....	53
Figura 9. Incremento en peso (gr) y longitud (mm) de lenguados de California a través del tiempo durante el experimento de recambio isotópico. L_E : longitud estándar, Ph: peso húmedo.....	55
Figura 10. Incremento relativo en biomasa (W_R) a través del tiempo de juveniles de lenguado de California alimentados con misidáceos.....	57
Figura 11. Cambios en $\delta^{13}\text{C}$ en relación al incremento relativo en biomasa de juveniles de lenguado sometidos a un cambio dieta.....	58

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Página

- Figura 12.** Ajuste de los datos de laboratorio a la ecuación de Fry y Arnold (1982) y comparación con un modelo de dilución simple.....61
- Figura 13.** Relación longitud (mm)-peso (gr) de juveniles de lenguado de California capturados en el campo.....65
- Figura 14.** Estimación del tiempo requerido por juveniles de lenguado de California de diferentes tallas para equilibrarse con una nueva fuente de alimento.....
65
- Figura 15.** Incremento relativo en biomasa (W_R) exhibido por juveniles de lenguado de California durante el experimento de inanición.....67
- Figura 16.** Cambios en $\delta^{13}\text{C}$ a través del tiempo en el tejido de juveniles de lenguado de California después de un periodo de inanición de 20 a días a 1 mes.....69
- Figura 17.** Cambios en $\delta^{15}\text{N}$ a través del tiempo en el tejido de juveniles de lenguado de California después de un periodo de inanición de 20 a días a 1 mes.....70

LISTA DE TABLAS

Página

Tabla I. Composición isotópica de la dieta empleada en la alimentación de juveniles de lenguado de California en la fase experimental. Diferencias en la composición isotópica de la dieta inicial (<i>Artemia</i>) y la dieta final (misidáceos y krill).....	31
Tabla II. Especies colectadas para la caracterización de la composición isotópica de las fuentes de producción primaria y presas potenciales que sustentó a juveniles de lenguado de California en la Bahía de Todos Santos y el Estero de Punta Banda durante primavera-otoño del 2003.....	37
Tabla III. Composición isotópica de carbono y nitrógeno de algunos organismos que forman parte de las redes tróficas en la Bahía de Todos Santos y el Estero de Punta Banda (promedio $\pm$ DE).....	40
Tabla IV. Valores del coeficiente de recambio metabólico (c), obtenido ajustando la ecuación de Fry y Arnold (1982) a los resultados del experimento de laboratorio.....	62
Tabla V. Comparaciones estadísticas entre los valores de c obtenidos a tres temperaturas utilizando la ecuación de Fry y Arnold (1982) y $c = -1$ (modelo de dilución simple).....	62
Tabla VI. Resultados estadísticos obtenidos al evaluar si existen diferencias significativas entre los valores de c obtenidos bajo distintas temperaturas.....	62

I. INTRODUCCIÓN

I. 1. Generalidades

Históricamente, la variabilidad temporal y espacial en el tamaño de muchas poblaciones de peces marinos ha sido causa de interés y preocupación para las sociedades que dependen de los recursos pesqueros. Las fluctuaciones en las tasas de crecimiento y mortalidad durante fases tempranas del desarrollo pueden tener gran impacto en el potencial de reclutamiento y eventualmente en el tamaño de una población explotable (Houde, 1987). La identificación de los factores que influyen en el reclutamiento, o la adición de jóvenes a una etapa predefinida del ciclo de vida, es de suma importancia para el desarrollo de estrategias de manejo sustentables (Houde, 1987, 1989).

Los estadios tempranos de peces teleósteos marinos son considerados por varios autores como los más críticos de su ciclo de vida. Hjort (1914) fue el primero en proponer que las fluctuaciones en el tamaño de una población de peces son resultado de condiciones favorables o no favorables a las cuales individuos están expuestos durante etapas tempranas del ciclo de vida. Las amplias fluctuaciones en el nivel de reclutamiento de juveniles a poblaciones adultas pueden ser resultado de pequeñas variaciones en las tasas de mortalidad y de crecimiento y/o duración de los estadios tempranos (Van Der Veer 1994). Las principales causas de mortalidad natural de huevos, larvas en etapa de saco vitelino, larvas en etapa de alimentación exógena y juveniles son la inanición, la depredación y la exposición a condiciones físicas desfavorables; estas últimas pueden estar

asociadas al transporte de individuos a zonas poco adecuadas para su crianza o la exposición a temperaturas subóptimas o letales (Boehlert y Mundy 1988, Bailey 1994, Gibson 1994).

Muchas especies de peces marinos exhiben un ciclo de vida en el cual los adultos desovan en la costa, los huevos tienen una etapa planctónica y las larvas y/o juveniles tempranos reclutan a sistemas estuarinos para utilizarlos como hábitat de crianza (Allen 1988, Kramer 1991a). Varios factores físicos pueden estimular un comportamiento de respuesta en peces jóvenes en el proceso de migración hacia a habitats costeros o estuarinos. Algunos de estos factores incluyen el flujo de marea, la velocidad de las corrientes, la salinidad, la temperatura, señales olfatorias, turbidez y la composición del fondo (tamaño del grano) (Boehlert y Mundy 1988). Por ejemplo, una estrategia migratoria común es el uso de corrientes de marea como medio de transporte a sistemas estuarinos. Los peces pueden moverse hacia arriba en la columna de agua cuando las corrientes fluyen hacia zonas estuarinas y hacia al fondo cuando las corrientes no son favorables (Weinstein 1980). Sin embargo, el conocimiento actual sobre los procesos físicos y biológicos que influyen en el reclutamiento exitoso de especies que utilizan sistemas estuarinos como áreas de crianza es limitado.

Los sistemas estuarinos son de gran importancia por su alta productividad primaria y secundaria, y porque soportan una gran abundancia y diversidad de peces e invertebrados (Hobbie 2000, Mann 2000). Algunas de las ventajas de utilizar

estos sistemas como áreas de crianza son las altas tasas de crecimiento que exhiben los peces como consecuencia de la gran abundancia de alimento y temperaturas favorables, y la disminución en el riesgo de depredación en comparación con zonas costeras como resultado de una mayor complejidad del hábitat disponible (Haaker 1975, Kramer 1990 y 1991b). El Estero de Punta Banda, localizado en la Bahía de Todos Santos en la costa occidental de Baja California, México, es considerado por varios autores como una importante área de desove, alimentación y crianza para muchas especies de peces de importancia comercial y ecológica, incluyendo *Paralichthys californicus*, *Hypsopsetta guttulata*, *Paralabrax maculatofasciatus* y *Roncador stearnsii*, entre otras (Beltrán-Félix 1984, Beltrán-Félix et al. 1986, Castro-Longoria y Grijalva-Chon 1988, Hamman y Rosales-Casián 1997 a y b).

Los sistemas estuarinos son además ecosistemas muy frágiles y son altamente susceptibles a las actividades humanas. La degradación de estos hábitats es una de las principales causas de la disminución en la abundancia de algunas poblaciones de peces (Chambers 1992). Adicionalmente, la eutroficación, destrucción del hábitat, disminución en el flujo de agua dulce y la acumulación de contaminantes han sido relacionadas con la degradación de estos sistemas (Chambers 1992, Varanasi 1992). En Baja California, el Estero de Punta Banda ha sufrido modificaciones en el espejo de agua y la barra de arena que lo divide de la Bahía de Todos Santos. Estas modificaciones comprenden la construcción de casas de veraneo, la instalación de un complejo turístico en la barra de arena y la

instalación de plataformas petroleras en el extremo suroeste del estero en 1984. Aunque las plataformas no se terminaron y no son operativas, la obra preparatoria involucró la construcción de un dique y obras de dragado y relleno en el interior del estero (Ibarra-Obando y Escofet 1987, Ibarra-Obando 1990). Las repercusiones ecológicas de estas actividades incluyen la destrucción de 5 km de dunas, destrucción de hábitat de crianza de varias especies de invertebrados y peces de importancia comercial y la reducción total del volumen de agua que entra y sale del sistema mediante el flujo de marea, lo cual afectó la vegetación asociada a las marismas (Ibarra-Obando y Escofet 1987,1990). En la actualidad el sistema esta siendo sometido a presión por pesca por parte de pescadores locales y la presencia de turistas, los cuales también realizan diversas actividades recreativas (S.Z. Herzka, com. pers.).

I. 2. Importancia pesquera e historia de vida del *Paralichthys californicus*

Paralichthys californicus, o lenguado de California, es una especie de importancia comercial y recreacional, tanto en México como en Estados Unidos (Frey 1971). De entre los miembros de la familia Paralichthyidae, el lenguado de California es la especie que alcanza un mayor tamaño. Se han capturado organismos que pesan hasta 32 kg y miden más de 1.5 metros (Frey 1971). Se distribuye desde Quillayute River, Wáshington, Estados Unidos, hasta Bahía Magdalena en Baja California Sur (Moser y Watson 1990). Es una especie de longevidad cercana a los 30 años (Frey 1971). A lo largo del siglo XX, ha sido un recurso pesquero de gran importancia, aunque sus poblaciones han sufrido disminuciones drásticas

(Frey 1971, Barsky 1990). No hay información específica sobre las capturas o desembarques de esta especie en México, pero es un componente importante de la pesca de escama (Ramírez-Rodríguez 1996). Las capturas de lenguado en Sonora, Baja California y Baja California Sur representan el 36, 29 y 28%, respectivamente, de la captura nacional de este grupo (INP 1999). En México las capturas de lenguado han disminuido de 3000 a 2000 toneladas durante la década de los noventa (INP 1999). De todas las especies de peces planos capturados en Sonora y la península de Baja California, el lenguado de California es el más importante por su tamaño y calidad de su carne.

El lenguado de California exhibe cambios en sus requerimientos de hábitat a través de su ciclo de vida (Fig. 1). En su fase adulta el lenguado de California es abundante en fondos arenosos de hasta 185 m de profundidad (Haaker 1975). Los machos maduran primero, a los 2 o 3 años de edad y a una longitud estándar (L_E) de 200-300 mm. Las hembras alcanzan longitudes mayores en menos tiempo y suelen ser más grandes a una misma edad, pero no maduran antes de los 4 ó 6 años (380-430 mm L_E) (Haaker 1974, Buenfil 1990). Los adultos del lenguado se reproducen fuera de la costa y desovan a

lo largo de todo el año (Moser y Watson 1990), sin embargo, la principal época de desove es de febrero a agosto con un pico en mayo (Allen 1988, Kramer 1990).

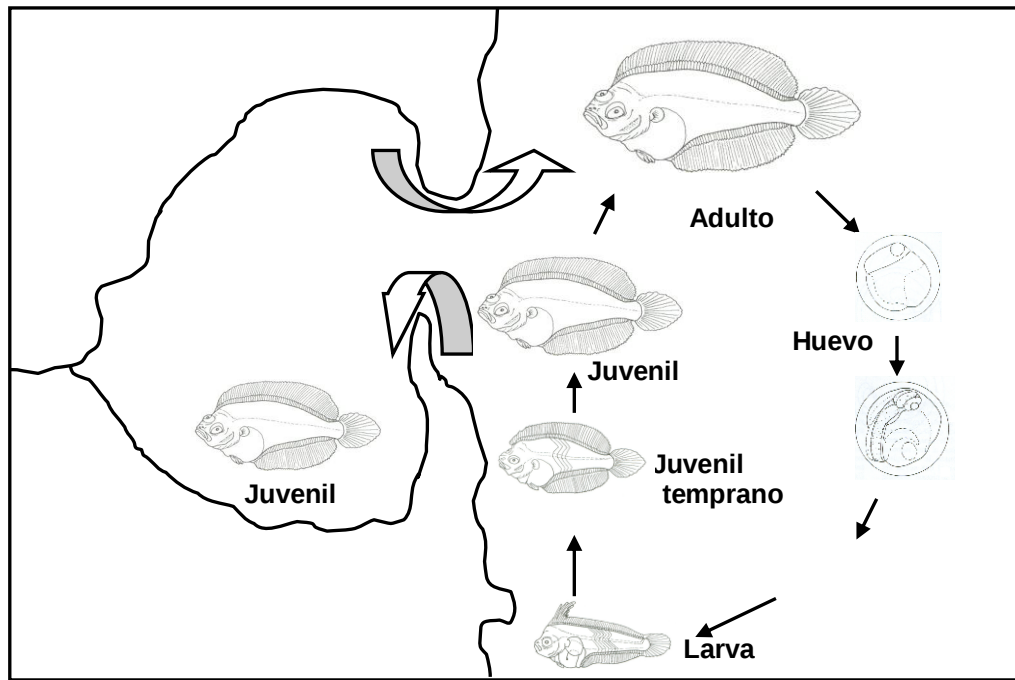


Figura. 1. Ciclo de vida del lenguado de California (*Paralichthys californicus*).

Los huevos tienen una etapa planctónica corta (Gadomski et al. 1990, Oda 1991) y eclosionan luego de un período de incubación de aproximadamente 2 días a los 2 mm L_E. Las larvas inician su asentamiento hacia el fondo por intervalos cortos de tiempo, aunque continúan alimentándose de la columna de agua. Su crecimiento y supervivencia están influenciados por la temperatura del agua durante el desarrollo. El rango de temperaturas óptimas para el desarrollo de los huevos es de 12 a 20° C, mientras que para el estadio larval es de 16 a 24° C (Gadomski y Cadell 1991).

Las larvas completan su metamorfosis a la etapa juvenil (alrededor de los 30-35 días luego de la eclosión y a los 7.5 a 9.4 mm L_E) y se asientan en el fondo en aguas costeras poco profundas. Haaker (1975) estableció que los juveniles de lenguado de california reclutan de la etapa planctónica a la demersal principalmente (i.e. asentamiento) en zonas costeras protegidas, aunque también se asientan en zonas expuestas. Juveniles de 61 a 120 mm L_E han sido capturados principalmente en sistemas estuarinos, mientras que individuos mayores a 200 mm L_E son capturados principalmente en la costa abierta luego de permanecer hasta 2 años en sistemas estuarinos (Haaker 1975, Allen 1988, Kramer 1990, Sandoval-Muy 1995, Rosales-Casián 1997a).

Luego de la metamorfosis, el lenguado de California tiene un cuerpo plano y elíptico. Posee ojos pequeños que pueden ocurrir sobre ambos lados de la cabeza, a diferencia de la mayoría de las especies de la Familia Paralichthyidae, en las cuales los ojos están localizados al lado izquierdo. El lado de los ojos esta cubierto por pequeñas escamas ctenoideas y muchas escamas accesorias, mientras que el lado ciego esta cubierto por escamas cicloideas y escamas accesorias (Haaker 1975). La boca es larga con un número moderado de dientes caninos. Esta especie puede distinguirse de otros peces planos de Baja California por el alto arco de la línea lateral sobre la aleta pectoral y por la extensión posterior de la maxila hasta debajo o detrás del ojo inferior (Haaker 1975).

El lenguado de California se alimenta visualmente y sus presas potenciales

cambian con el incremento en la talla. Los lenguados menores a 55 mm L_E se alimentan de crustáceos pequeños como anfípodos, cumáceos, copépodos, misidáceos y peces pequeños, mientras que los peces de 55 a 230 mm L_E se alimentan de crustáceos y peces más grandes. Los peces mayores de 230 mm L_E son generalmente piscívoros (Haaker 1975, Plummer et al. 1983). Entre los factores que influyen en la selección de las presas se encuentra su tamaño, la estación del año, la profundidad y las especies de presas disponibles. Sandoval-Muy (1995) encontró que los juveniles de lenguado de California en el Estero de Punta Banda y en la Bahía Todos Santos consumen presas similares a las reportadas en otros estudios (Haaker 1975, Plummer et al. 1983).

El lenguado de California es un componente importante de los consumidores demersales y de la ictiofauna de la Bahía de Todos Santos y del Estero de Punta Banda (Hammann y Rosales-Casián 1990a y 1990 b, Hammann y Ramírez 1990). Beltrán-Félix et al. (1986) reportaron a esta especie como la más abundante en el Estero de Punta Banda entre noviembre de 1982 y octubre de 1983, con un pico de abundancia durante el mes de marzo causado por el reclutamiento estuarino de un gran número de juveniles. Similarmente, Hammann y Rosales-Casián (1990) reportaron a esta especie como la más abundante en el estero (abundancia relativa de 38.4 %).

A pesar de su importancia económica, son relativamente pocos los estudios que se han hecho acerca de la dinámica del reclutamiento de juveniles de *Paralichthys*

californicus a sistemas estuarinos y se desconocen los factores físicos y biológicos que influyen sobre éste. Kramer (1990) sugirió que la abundancia de los juveniles de lenguado de California en la costa abierta es baja, por lo que las bahías y los sistemas estuarinos constituyen importantes, aunque no exclusivas, zonas de crianza para estadios tempranos de esta especie. Estos sistemas pueden contribuir de manera importante en la producción de adultos (Kramer 1991).

II. ANTECEDENTES

Existen varias técnicas que han sido aplicadas para trazar la inmigración estuarina (i.e., reclutamiento estuarino) de algunas especies de peces. Entre las más importantes están el análisis de abundancia y de frecuencia de tallas, la identificación de marcas en otolitos asociadas al asentamiento y estudios de marcaje y recaptura. Sin embargo, para el lenguado de California estas técnicas no son las más apropiadas. El análisis de abundancia y frecuencias de tallas no es útil debido a que existe un amplio rango de tallas a las cuales los juveniles de lenguado migran a los sistemas estuarinos (30-70 mm L_E) (Kramer 1990). Esto hace difícil distinguir entre individuos que han reclutado en diferentes momentos. De igual forma, el análisis de marcas en otolitos tampoco es conveniente porque en esta especie el asentamiento (y por lo tanto la formación de marcas en los otolitos) por lo general ocurre en la costa y el reclutamiento estuarino es posterior (Kramer 1990, 1991a y 1991b). Por último, la técnica de marcaje y recaptura tampoco es la más adecuada debido al alto costo de la metodología dado el gran esfuerzo humano necesario para el marcaje de una gran cantidad de animales pequeños y la baja probabilidad de recaptura.

Una herramienta desarrollada recientemente para trazar el reclutamiento estuarino se basa en el análisis de la abundancia relativa de los isótopos estables de carbono y nitrógeno en los tejidos de los peces (Herzka y Holt 2000, Herzka et al. 2001, 2002). Esta estrategia se basa en la premisa de que los animales que habitan zonas costeras y que forman parte de la cadena alimentaria cuya base es

el fitoplancton, difieren en composición isotópica de aquellos cuya fuente de carbono son principalmente las plantas bentónicas de los sistemas estuarinos (France 1995, Deegan y Garrit 1997). Al reclutar a un hábitat estuarino y al cambiar las fuentes de carbono predominantes y/o el nivel trófico al cual se alimenta un juvenil, la composición isotópica de los tejidos de un individuo cambiará gradualmente hasta llegar a un equilibrio con las nuevas fuentes de alimento (Fry y Arnold 1982, Hesslein et al. 1993, Fig. 2). Por lo tanto, la composición isotópica de los tejidos de un individuo que ha reclutado recientemente puede servir como un trazador natural de la inmigración estuarina.

Recientemente, Herzka et al. (2001, 2002) desarrollaron un modelo empírico basado en la medición de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ para reconstruir los patrones temporales de reclutamiento estuarino de la corvina dorada (*Sciaenops ocellatus*) y para examinar la distribución de tallas de individuos recién reclutados durante una estación completa de reclutamiento. Ellos concluyeron que el uso de la proporción de isótopos estables como trazadores del reclutamiento permiten establecer patrones de reclutamiento con alta resolución temporal (días) para corvina dorada y otras especies de peces que experimentan un cambio abrupto de hábitat durante los estadios tempranos de su ciclo de vida.

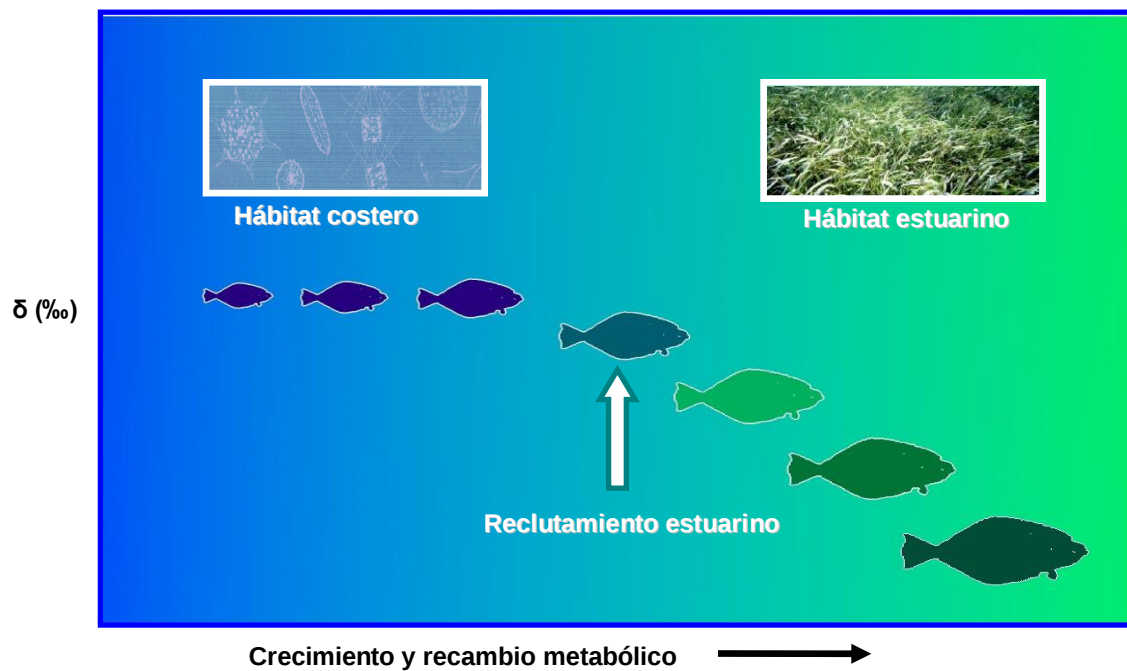


Figura. 2. Modelo conceptual que muestra el cambio gradual en la composición isotópica en la fase juvenil de un pez al cambiar de un hábitat costero a uno estuarino.

II.1. Isótopos estables y su aplicación a estudios de reclutamiento estuarino

Cada elemento químico se caracteriza por poseer un número determinado de protones (partículas con carga positiva). El número de protones es el número atómico y está representado por la letra Z. Un mismo elemento puede tener diferente número de neutrones (partículas sin carga), y por lo tanto, diferente número de masa. Los átomos con el mismo número de protones y electrones pero con diferente número de neutrones se denominan isótopos (Alcántara 1992). Por ejemplo, la mayoría de los átomos de carbono (C^{12}) tienen generalmente 6 protones y 6 neutrones, y por lo tanto su número de masa es

12 (C^{12}), pero hay átomos de carbono con un número de masa de 13 (isótopo estable y pesado C^{13}), o con un número de masa 14 (isótopo inestable o radioactivo C^{14}). El nitrógeno (N) tiene dos isótopos estables (N^{14} y N^{15}) (Sherman et al. 2001).

Las moléculas que componen las sustancias están compuestas por átomos, pero dada la mayor abundancia de los isótopos estables livianos en la naturaleza, la mayor parte de las moléculas contienen átomos livianos de un elemento. Sin embargo, algunas tienen átomos pesados. La mayor parte de las moléculas de bióxido de carbono (CO_2) del aire tienen un peso molecular de 44 (12 del átomo de carbono más 32 de los dos átomos de oxígeno), pero una minoría tiene un peso molecular de 45 debido a que contienen carbono pesado (C^{13}). Los organismos autotróficos fijan CO_2 formando materia orgánica (Vander 1982). Por razones cinéticas, las enzimas de los seres vivos discriminan negativamente las moléculas de CO_2 que tienen isótopos pesados, metabolizando y excretando preferentemente los isótopos livianos (fraccionamiento isotópico). Distintas rutas metabólicas producen moléculas con diferentes proporciones del isótopo pesado con respecto al isótopo liviano (Vander 1982).

Hay variaciones en la abundancia relativa de isótopos de elementos livianos entre diferentes componentes de la biosfera. Estas variaciones en la composición de isótopos estables son usualmente reportadas en partes por mil (‰) y están normalizados a estándares aceptados internacionalmente. La desviación entre la

abundancia relativa en una muestra con respecto a un estándar arbitrario se conoce como delta (δ), y estos valores se calculan como:

$$\delta (\text{‰}) = (R_{\text{muestra}}/R_{\text{estándar}} - 1) \times 1000 \quad (1)$$

donde R representa la proporción del isótopo pesado con respecto al liviano (ejemplo, C^{13}/C^{12}) de la muestra y el estándar. El uso de estándares universales es resultado de las dificultades asociadas a medir con precisión la abundancia absoluta de los isótopos de un elemento. Además, también permite comparar razones isotópicas analizadas en distintas máquinas y estimadas en relación a distintos estándares secundarios. Los valores son reportados en relación a PeeDee Belemnita para el $\delta^{13}C$ y nitrógeno atmosférico para el $\delta^{15}N$. Valores de δ positivos con respecto al estándar indican que las muestras están enriquecidas (más isótopo pesado que liviano), mientras que valores de δ negativos, indican que las muestras están menos enriquecidas (más isótopo liviano).

Los principales pasos de discriminación isotópica en la incorporación biológica del carbono en productores primarios son la captación y difusión intracelular del CO_2 y su fijación fotosintética. Se conocen tres vías fotosintéticas principales: el ciclo de Calvin- Benson o C-3, el ciclo de Hatch-Slack o C-4 y el ciclo CAM (Crassulacean acid metabolism) (Vander 1992). La mayoría de las plantas terrestres C-3 tienen un rango de valores de $\delta^{13}C$ entre -23 ‰ y -30 ‰, mientras que las plantas C-4 generalmente tienen un rango de valores de $\delta^{13}C$ de -12 a -16 ‰ (Boon y Bunn

1994, Jennings et al. 1997, Deegan y Garrit 1997). Estas diferencias en la composición isotópica permiten distinguir la proporción de carbono proveniente de plantas C-3 y C-4 en la dieta de herbívoros (Teeri y Schoeller 1979), y por lo tanto, constituyen una herramienta importante para el estudio del flujo de materia orgánica a través de redes tróficas.

En sistemas estuarinos, las algas bentónicas tienen valores promedio en $\delta^{13}\text{C}$ de -17 ‰ y están enriquecidas en C^{13} por aproximadamente 5 ‰ con relación a las algas planctónicas (-22 ‰, France 1995). Los pastos marinos suelen tener un rango de valores de -3 a -15 ‰, las macroalgas de -8 a -27 ‰, las plantas C-4 de humedales suelen estar enriquecidas en C^{13} (-12 a -14 ‰) en relación al fitoplancton (-18 a -24 ‰) y las plantas de humedal C-3 suelen tener una cantidad menor de C^{13} (-16 a -23 ‰) (Simenstad y Wissmar 1985, Hesslein et al. 1991, Vizzini y Mazzola 2003). Dado que la composición isotópica de los tejidos de un animal refleja la de su dieta, suele haber diferencias entre el $\delta^{13}\text{C}$ de peces que se alimentan en hábitat costero y estuarino (Fry y Parker 1979, Fry 1983, Fry et al. 1999, Herzka et al. 2002). La técnica de isótopos estables también se ha utilizado para establecer el patrón de migración en crustáceos, ballenas, tortugas, aves, y otros animales (Hobson 1999).

Hay un enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ de alrededor de 1 ‰ de un animal con respecto a su dieta como consecuencia de procesos metabólicos (DeNiro y Epstein 1978). En el caso del nitrógeno, el enriquecimiento es de aproximadamente 3 ‰ entre el

consumidor y su dieta, por lo que el $\delta^{15}\text{N}$ se ha utilizado como indicador del nivel trófico (DeNiro y Epstein 1981). A las diferencias en la proporción isotópica entre el animal y su fuente de alimento se le llama fraccionamiento y se calcula:

$$\text{Factor de fraccionamiento } (\Delta) = \delta_{\text{animal}} - \delta_{\text{dieta}} \quad (2)$$

La tasa de recambio isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ luego de un cambio en la(s) fuente(s) de alimentación es función del crecimiento (incremento en biomasa corporal después del cambio de dieta) y del recambio metabólico (excreción y reemplazo del tejido corporal existente) (Fry y Arnold 1982, Tieszen et al. 1983, Hesslein et al. 1993, Herzka y Holt 2002).

Un requerimiento necesario para utilizar la proporción de isótopos estables como trazadores del reclutamiento es que haya diferencias entre las fuentes de alimento y/o estructura trófica que sustenta a la especie de interés entre hábitats (costero = pre-reclutamiento vs estuarino = post-reclutamiento) (Herzka y Holt 2000). Aquellos reclutas capturados en un hábitat estuarino cuyos tejidos muestren valores isotópicos intermedios entre las fuentes predominantes de carbono del hábitat costero y estuarino (individuos en transición), son considerados como reclutas recientes y es posible distinguirlos de aquellos que han llegado al equilibrio con las fuentes de carbono predominantes en el sistema (Herzka et al. 2002).

Adicionalmente, la utilización de la proporción de isótopos estables como trazadores del reclutamiento estuarino requiere de la evaluación de la tasa de recambio isotópico de los tejidos después de un cambio de dieta para estimar el tiempo necesario para que la composición isotópica refleje la composición de las nuevas fuentes de alimento (Fry y Arnold 1982). Aunque la importancia relativa del crecimiento y el recambio metabólico a la tasa de recambio isotópico en peces teleósteos no se ha estudiado del todo, por lo general se ha observado que para animales con altas tasas de crecimiento, el cambio en la composición isotópica es producto de la adición de biomasa después del cambio de dieta (modelo de dilución simple) (Herzka 2005). Sin embargo, en algunos casos también se ha detectado el efecto del recambio metabólico (Fry y Arnold 1982, Hesslein et al. 1993, Herzka et al. 2001). De aquí la importancia de evaluar la tasa recambio isotópico bajo condiciones controladas.

III. OBJETIVO GENERAL

Este trabajo pretende sentar las bases para caracterizar los patrones de reclutamiento estuarino del lenguado de California al Estero de Punta Banda, Baja California, México, utilizando análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno.

III. 1. Objetivos particulares:

- Caracterizar la estructura de la red alimentaria que sustenta a juveniles tempranos dentro del Estero de Punta Banda y en zonas costeras adyacentes al sistema.
- Establecer si existen diferencias entre la composición isotópica de juveniles capturados en el hábitat costero y reclutas estuarinos equilibrados con las fuentes de alimento disponibles en el Estero de Punta Banda.
- Evaluar la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico a los cambios en la composición isotópica de juveniles del lenguado de California después de un cambio de dieta.
- Evaluar el efecto de la temperatura en la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico a cambios en la composición isotópica de los tejidos de juveniles de lenguado luego de un cambio de dieta.

- Evaluar el efecto de la inanición sobre la composición isotópica de los juveniles de lenguado de California para evaluar si su efecto sobre el $\delta^{13}\text{C}$ o $\delta^{15}\text{N}$ pudiese ser confundido con el ocasionado por un cambio de dieta.

- Estimar el tiempo necesario para que la composición isotópica de un individuo llegue a un equilibrio con una nueva fuente de alimento.

IV. HIPÓTESIS

- Las fuentes de producción primaria que sustentan a juveniles del lenguado de California en el Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos es distinta.
- Hay diferencias entre la composición isotópica de juveniles capturados en el hábitat costero y reclutas estuarinos equilibrados con sus nuevas fuentes de alimento.
- Los isótopos estables de carbono y nitrógeno pueden ser utilizados como trazadores naturales de reclutamiento estuarino de juveniles de lenguado de California al Estero de Punta Banda.
- La contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico a la tasa de cambio isotópico es función de la temperatura.
- La inanición causa cambios significativos en la composición isotópica de los tejidos de juveniles del lenguado de California.

V. METODOLOGÍA

V. 1. Área de estudio

La Bahía de Todos Santos se localiza en Ensenada, Baja California, México. El Estero de Punta Banda ($31^{\circ}40' - 31^{\circ}56'N$, $116^{\circ}36' - 116^{\circ}50'W$) es un sistema estuarino en forma de L con profundidades menores a los 10 m, las cuales disminuyen desde la boca hacia la cabeza (Acosta-Ruiz y Álvarez-Borrego 1974, Álvarez Borrego et al. 1984, Pritchard et al. 1978) (Fig. 3). Tiene un área de 11.6 km² durante marea alta y 3.6 Km² durante marea baja (Pritchard et al. 1978). Posee una boca de aproximadamente 100 m de ancho en su extremo norte a través de la cual el sistema está conectado a la Bahía de Todos Santos. El estero se encuentra en el margen suroeste de la Bahía de Todos Santos y está separado de esta por una barra de arena de 7.5 km de largo (Acosta-Ruiz y Álvarez-Borrego 1974, Secretaría de Marina 1974).

No existe un aporte continuo de agua dulce al Estero de Punta Banda, por lo que la evaporación excede la precipitación, excepto durante períodos de lluvia durante el invierno. En condiciones típicas de bajo aporte pluvial, la salinidad y la temperatura aumentan de la boca al extremo interno (Acosta-Ruiz y Álvarez-Borrego 1974, Álvarez-Borrego y Álvarez-Borrego 1982). Los valores de salinidad varían en un rango anual de 33.2 a 37.4 ‰, con valores máximos durante el verano (Acosta-Ruiz y Álvarez-Borrego 1974). Las corrientes son principalmente

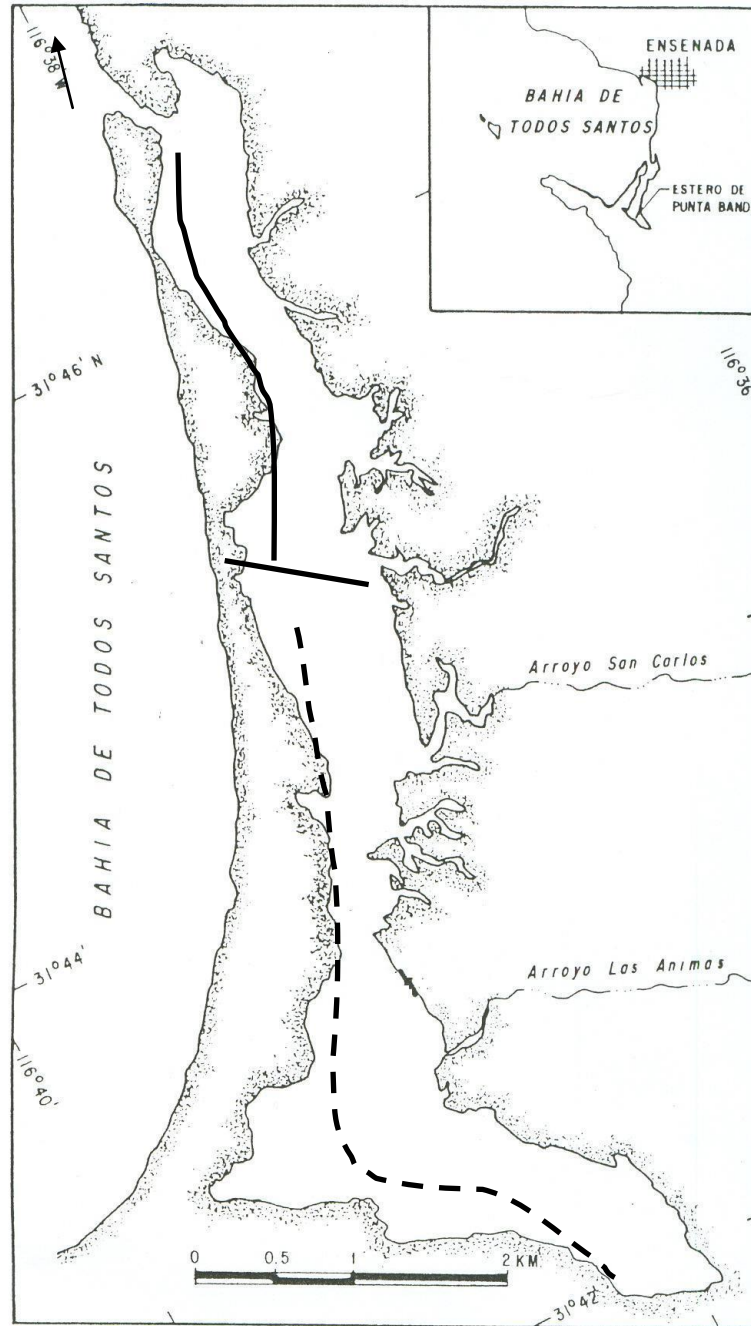


Figura. 3. Mapa del área de estudio y sitios de muestreo en el Estero de Punta Banda, zona I (línea continua), zona II (línea discontinua) y la zona III (flecha) área costera adyacente al estero en la Bahía Todos Santos.

corrientes de marea, las cuales son más fuertes cerca a la boca y menores hacia la cabeza (Pritchard et al. 1978).

La flora algal en el estero está representada por 20 géneros y 26 especies. Las especies que se consideran más representativas por su amplia distribución y abundancia son las algas verdes *Enteromorpha clarathara* variedad *clarathara*, *Enteromorpha clarathara* variedad *crinita*, *Enteromorpha fleuxosa*, *Rhizoclonium riparium* y *Gracilaria verrucosa* (Aguilar-Rosas 1982, Castillo-Álvarez 1990). Algunos de los subsistemas más importantes dentro del Estero de Punta Banda son los humedales, fondos arenosos y mantos de pasto marino *Zostera marina* (Aguilar-Rosas 1980).

V. 2. Muestreo

Para determinar si existían diferencias en la cadena alimentaria que sustenta al lenguado de California, se colectaron muestras en la Bahía de Todos Santos y dentro del Estero de Punta Banda. Este fue dividido en dos zonas, la zona I (cercana a la boca) y la zona II (parte central y sur). El área costera adyacente al estero fue considerada como la zona III. Los muestreos se realizaron durante verano (abril-julio) y otoño (octubre-noviembre) del 2003, período que abarca la principal temporada de reclutamiento de esta especie en la región. Se efectuaron lances de 10 minutos con un trineo de 1 m y 3 mm de luz de malla y una red camaronera (chango) de 7.6 m de ancho de boca y 25 mm de luz de malla a una

velocidad promedio de 3 km/hr. Las profundidades de arrastre variaron de 1 a 5 m en el estero y de 4 a 6 m en la bahía.

Se capturaron un total de 308 lenguados de California durante los meses de muestreo: 97 en la zona I del estero (15 a 320 mm L_E) 105 en la zona II del estero (38 a 426 mm L_E) y 106 en la zona III (68 a 320 mm L_E) correspondiente a la Bahía de Todos Santos. En esta última zona, sólo se colectaron peces en el mes de noviembre, aunque se hicieron arrastres en mayo, julio y octubre.

Además de juveniles del lenguado de California, se colectaron plantas de humedal, macroalgas, pastos marinos, peces, crustáceos, camarones y otros organismos que forman parte de las redes tróficas locales (aproximadamente 230 muestras). Se colectaron 5 replicas de cada especie, por fecha y localidad cuando fue posible. Para determinar la composición isotópica de la materia orgánica sedimentada (MOS) se tomaron muestras de sedimento en la zona I y II dentro del estero con un nucleador de 3 cm de diámetro y hasta 2.5 cm de profundidad (5 replicas por fecha y localidad). Dada la profundidad no se tomaron muestras de MOS en la Bahía de Todos Santos. Para la estimación de la composición isotópica de la materia orgánica particulada (MOP), se tomaron 3 muestras de agua en las dos zonas del estero y en dos zonas de la Bahía de Todos Santos (junto al estero y cerca a la marina del Hotel Coral). Todas las muestras fueron etiquetadas debidamente en el campo e inmediatamente puestas sobre hielo hasta llegar al laboratorio, donde las muestras de agua fueron filtradas. Los filtros y el resto de

las muestras fueron congelados para su posterior identificación y preparación para el análisis isotópico. Para medir la composición isotópica de los lenguados de California colectados en campo se seleccionó una submuestra de peces por localidad. Para esto, se excluyeron los peces mayores a 200 mm L_E para minimizar el efecto de cambios ontogenéticos sobre la composición isotópica de los tejidos, y los peces restantes fueron distribuidos en rangos de tallas de 20 mm L_E . Para los intervalos de tallas en los cuales el número de individuos fue mayor a 10, se seleccionaron aleatoriamente 10 individuos. Cuando el número de individuos disponibles fue menor a 10, se seleccionaron y procesaron todos los peces.

V. 3. Preparación de las muestras para análisis isotópico

Los peces colectados en el campo fueron descongelados y enjuagados con agua destilada para eliminar el bicarbonato del agua y materiales adheridos. Una vez limpios se midió la L_E y se disectaron para extraer una pequeña sección de músculo blanco del área dorsal. Este tejido contiene pequeñas cantidades de lípidos y carbonatos orgánicos y su composición isotópica es menos variable que la de otros tejidos (Pinnegar y Polunin 1999). El músculo fue secado 60 °C por 48 hrs, molido manualmente en un mortero y puestos en viales de vidrio. Los viales fueron almacenados en recipientes de plástico con disecante.

Las muestras de agua fueron filtradas al vacío sobre filtros de fibra de vidrio (GF/F con porosidad de 0.4 μm) previamente calentados a 500 °C por 5 horas. Luego de

la filtración de aproximadamente 1 L de agua, los filtros se enjuagaron dos veces con agua destilada para eliminar el bicarbonato del agua de mar. Se secaron a 60 °C por 48 hrs, y se pusieron en viales de vidrio en un recipiente con disecante.

De las 5 replicas de plantas de humedal individuales colectadas en campo se seleccionaron en el laboratorio 3 replicas al azar y fueron enjuagadas varias veces con agua destilada. Las hojas de cada planta fueron submuestreadas. El número de hojas procesadas por individuo varió con base en el tamaño y tipo de planta. De manera similar, los pastos marinos fueron enjuagados con agua destilada para eliminar el detritus y los carbonatos inorgánicos. Se realizó un submuestreo de las hojas seleccionando 3 hojas por individuo. Las epífitas fueron retiradas raspando cuidadosamente las hojas del pasto con una espátula y sólo se colectó una muestra.

Las algas fueron también enjuagadas cuidadosamente con agua destilada para retirar el detritus y carbonatos. Se submuestrearon frondas, filamentos o fibras de acuerdo al tamaño y especie. Todas las muestras fueron secadas a 60 °C por 48 hrs, molidas a mano en un mortero y almacenadas en viales de vidrio.

La preparación para el análisis del MOS consistió en tomar una pequeña porción de sedimento y retirar cualquier tipo de contaminación utilizando pinzas (como restos de algas, plantas, pastos, conchas, etc.). Posteriormente las muestras fueron secadas a 60 °C por 48 hrs, molidas a mano en un mortero y colocadas en

viales de vidrio. Dado que la materia orgánica del sedimento suele contener carbonatos inorgánicos que tienen una composición isotópica distinta a la de la fracción orgánica, se acidifica las muestras con HCl 1N por 72 hrs para el análisis de $\delta^{13}\text{C}$. El proceso de acidificación remueve carbonatos, pero algunos autores han demostrado que este proceso altera el contenido de N^{15} en la muestra (Bosley y Wainright 1999). Por lo tanto, una vez secas las muestras fueron separadas en dos partes: una para el análisis de la composición isotópica de nitrógeno y otra para el análisis de la composición isotópica de carbono. Una vez terminado el tratamiento con ácido, las muestras de sedimento para el análisis de carbono fueron secadas nuevamente a 60 °C por 48 hrs. y molidas.

La macrofauna asociada a la vegetación fue separada manualmente, enjuagada con agua destilada, submuestreada en el caso de los organismos grandes y procesados según lo descrito anteriormente. La microfauna asociada a la vegetación y al bentos fue separada en dos fracciones usando tamices de 60 y 200 μm de luz de malla, y se siguió el mismo procedimiento. En general todas las muestras de invertebrados tuvieron un tratamiento similar, aunque hubo diferencias en el tipo de tejido muestreado. Por ejemplo, en las almejas se colectó el músculo del pie, en los cangrejos el músculo de las quelas, en los camarones el músculo de la cola y en el caso de caracoles se utilizó todo el individuo, excepto el estómago y la concha.

Para la identificación de los organismos que forman parte de las redes tróficas, se fijaron varios individuos de cada especie en formol al 10%. Se efectuó una revisión bibliográfica para identificar las especies más representativas del Estero de Punta Banda (Aguilar-Rosas 1982, Castillo-Álvarez 1990, Rosales-Casián 1997). Después se consultaron varias guías de identificación de peces, invertebrados, plantas de humedal y algas (Abbott y Hollenberg 1976, McLean 1978, Wiggins 1980, Feber 1982, Jensen 1995, Flores 1996).

V. 4. Experimento de Laboratorio

V. 4. 1. Diseño experimental

Los huevos del lenguado de California fueron donados por el laboratorio “The Sea Laboratory”, ubicado en Redondo Beach, California, y transportadas por vía terrestre al laboratorio húmedo del Departamento de Acuicultura de CICESE. Para su transporte los huevos fueron colocados en bolsas de plástico con oxígeno a presión a una densidad 1000 huevos L⁻¹. Las bolsas se colocaron en hieleras para evitar fluctuaciones en la temperatura. Las larvas se cultivaron en tanques circulares de fibra de vidrio con una capacidad de 150 L. Se sembraron aproximadamente 2000 larvas por tanque. Cada tanque estuvo conectado a un sistema abierto con flujo continuo de agua de mar filtrada (arena y cartucho) y esterilizada (ultravioleta). El flujo de agua fue constante y equivalente a un 100 % de recambio al día (aproximadamente 6.2 L min⁻¹). Esto mantiene una corriente circular en cada tanque y facilita la distribución homogénea del alimento. El agua se drenó a través de una malla colocada dentro de cada tanque. La luz de malla

varío según el régimen de alimentación. Durante el período larvario los peces se mantuvieron con un ciclo artificial noche-día (12 luz: 12 oscuridad). Aunque las larvas fueron alimentadas con rotíferos (*Brachionus plicatilis*.) durante los primeros días de alimentación exógena, los juveniles fueron alimentados con nauplios de *Artemia franciscana* recién eclosionados de quistes comerciales y enriquecidos con ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), hasta el inicio del experimento de cambio de dieta.

Para estimar el tiempo necesario para que la composición isotópica de juveniles de lenguado de California llegue al equilibrio con una nueva fuente de alimento, evaluar la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico al patrón de cambio en la composición isotópica de los tejidos y estimar el efecto de la temperatura en estos procesos, se llevaron acabo experimentos controlados en el laboratorio en donde se sometió a juveniles tempranos a un cambio de alimentación.

La selección de las temperaturas para la evaluación del recambio isotópico en respuesta a un cambio de dieta se realizó con base en una revisión bibliográfica. El rango de temperaturas recomendadas para el crecimiento de larvas de esta especie en el laboratorio es de 16 a 24 °C (Gadomski et al. 1990, 1991). Además de ser adecuadas para el crecimiento, las temperaturas también deberían ser representativas del medio natural, por lo que se seleccionaron 15, 19 y 24 °C (Álvarez-Borrego y Álvarez-Borrego 1982).

Los peces se asignaron aleatoriamente a 6 tanques (50 individuos/tanque) y se utilizaron 2 tanques por temperatura. El agua de dos tanques fue mantenida a temperatura ambiente (19 °C). Los peces restantes fueron aclimatados a 15 °C y 24 °C aumentando o disminuyendo la temperatura en 1 °C/día según fuera el caso utilizando calentadores o sistemas de refrigeración de agua. Una vez lograda la aclimatación, los peces fueron anestesiados con MS-222 (1 gr/litro), marcados, pesados (con una balanza analítica con resolución de 0.001 gr), medidos (L_E con un vernier con una resolución de 0.05 mm), y regresados a sus tanques. Para marcar los peces se utilizaron marcas individuales del sistema CWT (Decimal Coded Wire Tags, Northwest Marine Technologies, Inc.). Estas marcas miden 0.25 mm de diámetro y 2 mm de longitud, están hechas de acero inoxidable y contienen un código individual. Las marcas fueron inyectadas en el músculo dorsal con un inyector manual para evitar lesionar algún órgano vital. La salinidad, la concentración de oxígeno y la temperatura de cada tanque fueron tomadas diariamente a lo largo de todo el experimento. El experimento duró aproximadamente 2 meses (noviembre-diciembre del 2003). Las temperaturas promedio (± 1 desviación de estándar, DE) a lo largo del experimento en los tanques 3 y 4 fue de 15.3 ± 1 °C y 15.2 ± 0.6 °C, de 17.8 ± 0.9 °C y 18.3 ± 0.6 °C en los tanques 5 y 6 y de 24.2 ± 0.8 °C y 23.7 ± 0.3 °C en los tanques 1 y 2. La salinidad promedio de los tanques a 15 °C fue de 33.8 ± 0.1 ‰, de 34.0 ± 0.9 y 34.0 ± 0.2 a 18 °C y 33.0 ± 0.3 ‰ y 34.3 ± 0.2 ‰ a 24 °C.

El alimento para ser utilizado en los experimentos de cambio de dieta fue seleccionado con base en su composición isotópica con respecto a la de *Artemia franciscana*, el tipo de alimento apropiado para el cultivo de juveniles y la estabilidad de la composición isotópica. Se realizó un análisis previo de la composición isotópica de *Artemia* y de misidáceos congelados (Piscine Energetics, Tabla I). Los resultados indicaron que la diferencia en $\delta^{13}\text{C}$ de los misidáceos y *Artemia* era suficiente (9.3 ‰), pero la diferencia en $\delta^{15}\text{N}$ no lo era (0.1 ‰). Por lo tanto, se empleó un segundo tratamiento durante el cual se alimentaron a los peces con krill (Piscine Energetics). No se midió la composición de del krill antes de iniciar el experimento de recambio isotópico por falta de tiempo. La cantidad de alimento (misidáceos y/o krill) agregada diariamente fue de 1.75 gr/tanque. Para determinar el nivel de alimentación se estimó el 10 % del peso húmedo promedio de los peces y se multiplicó por el número de individuos en los tanques.

Tabla I. Composición isotópica promedio ($\pm$ DE) del alimento empleado en la alimentación de juveniles del lenguado de California en la fase experimental. Diferencias en la composición isotópica de la dieta inicial (*Artemia*) y la dieta final (misidáceos y krill).

Tipo de Alimento	n	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Diferencias en $\delta^{15}\text{N}$ (‰)
<i>Artemia franciscana</i>	2	-22.1 $\pm$ 0.1	8.4 $\pm$ 0.0	--	--
Misidáceos	2	-31.4 $\pm$ 0.3	8.4 $\pm$ 0.1	-9.3	0.0
Krill	2	-29.5 $\pm$ 0.2	7.6 $\pm$ 0.2	-7.4	0.8

El intervalo de tallas al inicio de los experimentos de cambio de dietas fue de 19.30 mm L_E (0.106 gr) a 36.40 mm L_E (0.510 gr). Los juveniles tenían 86 días de edad. Antes de realizar el cambio de dieta de *Artemia franciscana* a misidáceos y/o krill, se efectuó un muestreo (4 peces/tanque) para evaluar la composición isotópica inicial. Posteriormente, los peces de tres tanques (a 15, 18 y 24 °C) fueron alimentados con misidáceos y otros tres con krill. Cada 6 días se extrajeron 4 peces en los tanques a 15 y 18 °C. Los dos primeros muestreos en el tanque a 24 °C se realizaron cada 6 días y posteriormente cada cuatro, debido a que se observó que el crecimiento era muy rápido. Todos los peces fueron medidos, pesados, etiquetados y congelados individualmente para su posterior procesamiento y análisis isotópico. Uno de cada cuatro se usó para medir su peso seco y posteriormente construir una relación longitud-peso. Los tres restantes fueron considerados como réplicas y procesados enteros en su preparación para el análisis isotópico según lo descrito anteriormente.

V. 4. 2. Análisis isotópico

Para el análisis de la composición isotópica, se pesaron de 500 a 1000 µg de material seco de peces, 20 mg de MOP y 70 mg MOS, 1 mg de plantas de humedal, algas y pastos y de 800 µg a 1.2 mg de almejas, cangrejos, camarones y caracoles en una balanza analítica con una precisión de 0.01 mg. Cada muestra fue encapsulada en cápsulas de estaño de 5 x 9 mm. La determinación de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ se realizó en un espectrómetro de masas de flujo continuo (Europa Hydra

20/20) conectado a un analizador de elementos en el Stable Isotope Laboratory de la Universidad de California, Davis.

V.5. Análisis estadístico de resultados

V.5.1. Experimento de recambio isotópico

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del lenguado de California de todos los tanques fueron expresados en función de su incremento relativo en biomasa relativa luego de un cambio de dieta de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$W_R = W_t / W_i \quad (3)$$

Donde W_R es el peso húmedo de un individuo en el tiempo t y W_i es el peso húmedo inicial (antes del cambio de dieta). La ecuación de recambio isotópico de Fry y Arnold (1982) fue usada para evaluar la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico al cambio en la composición isotópica en función de W_R :

$$\delta_t (\text{‰}) = \delta_f + (\delta_i - \delta_f) (W_R)^c \quad (4)$$

donde δ_i y δ_f son los valores isotópicos inicial (antes del cambio de dieta) y final (en equilibrio con la nueva fuente de alimento) de los juveniles, respectivamente. El exponente c es el coeficiente de recambio metabólico y es indicativo de la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico al cambio en la composición isotópica (Fry y Arnold 1982). Si el valor de $c = -1$, el cambio en la

composición isotópica se debe únicamente al incremento en biomasa (modelo de dilución simple) y el recambio metabólico no es detectable. Si el valor de $c < -1$, tanto el crecimiento como el recambio metabólico contribuyen al cambio en la composición isotópica. Por lo tanto, la hipótesis nula a probar es la siguiente:

$$H_0: c = -1 \quad (5)$$

$$H_a: c < -1 \quad (6)$$

δ_i se obtuvo promediando la composición isotópica de todos los peces antes del cambio de dieta y se fijó para el proceso de ajuste de la ecuación de Fry y Arnold (1982). Dado que los peces no llegaron a equilibrarse con el alimento durante el experimento (ver resultados), el valor de δ_f se estimó con base en el valor de fraccionamiento (ver abajo) y la composición del delta final se mantuvo fija durante el ajuste. La estimación de c se realizó mediante un ajuste no lineal a la ecuación de Fry y Arnold (1982) usando el software Sigma Plot 7.0.

Los peces no se alimentaron adecuadamente los primeros dos muestreos y por lo tanto, no crecieron durante este tiempo. Antes de los ajustes, se eliminaron aquellos peces que todavía no mostraron un incremento relativo en peso después del tercer muestreo (día 18 del experimento), que fueron una minoría. Para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los valores de c obtenidos a distintas temperaturas y evaluar si los valores de c diferían significativamente de -1 se utilizó un estadístico t de Student para muestras pareadas con una $n < 3$ de acuerdo a lo recomendado por Kachigan (1985) y usando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Para disminuir la probabilidad de cometer Error Tipo I al hacer varias

pruebas t de Student, se utilizó la corrección de Bonferroni (Pagano y Gauvreau 2001). El nivel de significancia utilizado para cada comparación individual fue de $\alpha = 0.016$ ($\alpha = 0.05/3$).

V.5.2. Experimento de inanición

Durante el desarrollo del experimento se presentó una alta tasa de mortalidad en los 3 tanques alimentados con krill, probablemente debido a que los peces no estaban consumiendo el alimento. Por esta razón, sólo se pudieron realizar 5 muestreos a través del tiempo en el tanque a 15 °C y 4 muestreos en el tanque a 18 y 24 °C. Dado que no hubo consumo del alimento (ver resultados), los valores isotópicos de los peces obtenidos de estos tanques se consideraron respuesta a la inanición.

Para evaluar cambios significativos en la composición isotópica de carbono y nitrógeno de los peces a través del tiempo después de un largo período sin alimento (aproximadamente 1 mes), se realizó un análisis de regresión lineal utilizando el software Sigma Plot 7.0, para determinar si las pendientes eran significativamente diferentes de 0. Los resultados fueron obtenidos con base en la siguiente ecuación:

$$y = a + bx \quad (7)$$

donde y es la composición isotópica en el tiempo t , b es la pendiente y representa el cambio en la composición isotópica por unidad de tiempo, x es el tiempo en días transcurridos del experimento y a es el intercepto.

VI. RESULTADOS

VI. 1. Estructura de la red alimentaria

Los organismos que forman parte de las redes tróficas del Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos y cuya composición isotópica fue analizada incluyen seis especies de peces, tres especies de algas, seis especies de plantas de humedal, pastos marinos y diversas clases de invertebrados de las órdenes decápoda, anfípoda, misidácea e isópoda, entre otras (Tabla II). Para establecer si existen diferencias entre la composición isotópica de juveniles capturados en el hábitat costero y reclutas estuarinos se analizaron un total de 167 peces colectados en el campo en ambas zonas del estero y en la bahía y 188 organismos que forman parte de la cadena alimentaria en los dos tipos de hábitat.

La temperatura promedio ($\pm$ DE) en el estero varió durante los distintos meses de muestreo, fluctuando entre 19.4 ± 1 °C y 22.8 ± 0.3 °C en primavera y 22 ± 0.3 °C y 17.4 ± 0.5 °C en otoño. En la Bahía de Todos Santos la temperatura promedio en julio fue de 19.3 ± 0.5 °C, y fluctuó entre 18 ± 0.2 °C y 19 ± 0.3 °C en otoño.

La salinidad promedio más baja en el estero se presentó en abril y julio (36 ± 1 ‰) y la más alta en octubre (37 ‰). En la bahía la salinidad más baja se presentó en julio (35 ‰) y la más alta en octubre (36 ‰). La salinidad promedio observada en el interior del estero fue ligeramente mayor a la observada en la bahía durante los dos períodos de muestreo.

Tabla II. Especies colectadas para la caracterización de la composición isotópica de las fuentes de producción primaria y presas que potencialmente sustentó a juveniles de lenguado de California en el Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos durante primavera y otoño del 2003.

Tipo de Muestra	Especies Identificadas
Macroalgas	<i>Enteromorpha</i> sp. <i>Enteromorpha</i> prob. <i>intestinalis</i> <i>Gigartina</i> sp. <i>Ulva lactuca</i>
Pastos marinos	<i>Zostera marina</i>
Plantas de humedal (C-3)	<i>Batis maritima</i> <i>Frankenia grandifolia</i> <i>Salicornia virginica</i> . <i>Suaeda californica</i>
Plantas de humedal (C-4)	<i>Monanthochloe littoralis</i> <i>Spartina foliosa</i>
Invertebrados	Orden Decapoda <i>Portunidae</i> <i>Callinectes</i> sp. <i>Diogenidae</i> <i>Isocheles pilosus</i> <i>Camarones</i> decápodos Orden Mollusca <i>Calyptraeidae</i> <i>Crucibulum spinosum</i> Orden Cephalaspidea <i>Scaphandrid</i> <i>Argopecten aequisulcatus</i> <i>Bullidae</i> <i>Bulla gouldiana</i> <i>Donacidae</i> <i>Donax gouldii</i> Orden Amphipoda Orden Misidacea Orden Isopoda
Peces	Orden Pleuronectiformes <i>Bothidae</i> <i>Paralichthys californicus</i> <i>Pleuronectidae</i> <i>Hypsopsetta guttulata</i> <i>Pleuronichthys ritteri</i>

Continuación tabla II.

Tipo de Muestra	Especies Identificadas
<i>Peces</i>	<i>Orden Perciformes</i> <i>Gobiidae Ilypnus gilberti</i> <i>Blenniidae Hypsoblennius gentilis</i> <i>Syngnathidae Syngnathus leptorhynchus</i> <i>Larvas de sciaenidos</i>

VI. 1. 1. Productores primarios

Con excepción de la materia orgánica particulada (MOP), la cual mostró diferencias espaciales y temporales en $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ los valores isotópicos dentro de un mismo grupo de productores primarios fueron similares (Tabla III). La materia orgánica particulada (MOP) colectada en la Bahía de Todos Santos mostró diferencias temporales en $\delta^{13}\text{C}$ y en $\delta^{15}\text{N}$. Debido a la poca variabilidad mostrada (menor a 2 ‰) por los productores primarios de una misma taxa colectados dentro de cada zona del Estero de Punta Banda en las diferentes épocas del año, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ fueron promediados y agrupados por zona (Fig. 4). Los valores isotópicos correspondientes a la MOP, MOS y heterótrofos colectados en distintas zonas del sistema estuarino fueron graficados independientemente para cada estación del año (Fig. 4).

La MOP colectada en la Bahía de Todos Santos no presentó diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ (-17.6 ‰, valor promedio para las dos estaciones del año) entre períodos de muestreo, pero si se observaron diferencias en $\delta^{15}\text{N}$. La $\delta^{15}\text{N}$ de la MOP mostró diferencias de hasta 1.4 ‰, con valores promedio de 9.0 ± 0.4 ‰ en primavera y 10.4 ± 1.4 ‰ en otoño. La $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de la MOP colectada en Estero de Punta Banda presentó diferencias espaciales y temporales significativas (Tabla III, Fig. 4).

Tabla III. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de algunos organismos que forman parte de las redes tróficas de la Bahía de Todos Santos y el Estero de Punta Banda (promedio $\pm$ DE).

ORGANISMO	n	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Primavera 2003			
Bahía de Todos Santos (Zona III)			
Productores primarios y materia orgánica			
MOP	6	-17.6 $\pm$ 1.1	9.0 $\pm$ 0.4
<i>Zostera marina</i> (hojas secas)	3	-14.2 $\pm$ 2.7	8.2 $\pm$ 0.7
Invertebrados			
Caracol (<i>Bulla gouldiana</i>)	1	-12.5	10.2
Caracol (<i>Crucibulum spinosum</i>)	3	-16.0 $\pm$ 0.2	6.8 $\pm$ 0.4
Almeja (<i>Donax gouldii</i>)	3	-17.6 $\pm$ 0.1	9.9 $\pm$ 0.1
Isópodos	1	-14.6	13.3
Cangrejo (<i>Callinectes</i> sp.)	2	-14.9 $\pm$ 0.4	13.8 $\pm$ 0.1
Cangrejo ermitaño (<i>Isocheles pilosus</i>)	3	-22.6 $\pm$ 0.1	11.9 $\pm$ 0.4
Camarón (Orden Decápoda)	4	-14.3 $\pm$ 0.1	12.2 $\pm$ 0.1
Peces			
Lenguado moteado (<i>Pleuronichthys ritteri</i>)	1	-15.9	14.9
Larvas (Sciaenidos)	3	-14.2 $\pm$ 0.2	14.1 $\pm$ 0.1
Esteros de Punta Banda (Zona I)			
Productores Primarios y materia orgánica			
MOP	3	-17.2 $\pm$ 0.1	8.6 $\pm$ 0.2
<i>Zostera marina</i>	3	-10.6 $\pm$ 0.8	7.4 $\pm$ 0.1
<i>Enteromorpha</i> (prob. intestinales)	1	-11.9	12.9
Invertebrados			
Caracol (<i>Bulla gouldiana</i>)	6	-14.2 $\pm$ 0.3	12.2 $\pm$ 0.8
Escalopa (<i>Argopecten aequisulcatus</i>)	3	-17.3 $\pm$ 0.5	10.1 $\pm$ 0.4
Misidáceos	10	-12.7 $\pm$ 0.9	11.4 $\pm$ 0.8
Anfípodos	1	-8.1	7.7
Cangrejo (<i>Callinectes</i> sp.)	1	-14.5	12.7
Peces			
Gobios (<i>Ilypnus gilberti</i>)	4	-12.4 $\pm$ 0.8	13.1 $\pm$ 0.5
Pez pipa (<i>Syngnathus leptorhynchus</i>)	3	-12.5 $\pm$ 0.8	13.7 $\pm$ 0.8
Blénidos (<i>Hypsoblennius gentilis</i>)	3	-10.5 $\pm$ 1.3	15.4 $\pm$ 0.0
Lenguado diamante (<i>Hypsopsetta guttulata</i>)	3	-13.7 $\pm$ 0.7	12.9 $\pm$ 0.5
Esteros de Punta Banda (zona II)			
Productores Primarios y materia orgánica			
MOP	6	-23.7 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 0.0
MOS	9	-23.1 $\pm$ 1.0	3.6 $\pm$ 0.8
<i>Salicornia virginica</i>	3	-27.1 $\pm$ 1.1	7.8 $\pm$ 1.1
<i>Batis maritima</i>	3	-25.5 $\pm$ 0.3	9.0 $\pm$ 0.9
<i>Suaeda californica</i>	3	-26.4 $\pm$ 0.3	10.1 $\pm$ 1.7
<i>Frankenia grandifolia</i>	3	-27.2 $\pm$ 0.5	7.8 $\pm$ 1.2
<i>Monanthochloe littoralis</i>	3	-14.8 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 1.4
<i>Spartina foliosa</i>	3	-13.6 $\pm$ 0.3	9.2 $\pm$ 0.3
Invertebrados			
Caracol (<i>Bulla gouldiana</i>)	3	-19.2 $\pm$ 1.7	12.9 $\pm$ 0.3
Escalopa (<i>Argopecten aequisulcatus</i>)	3	-23.1 $\pm$ 0.2	7.6 $\pm$ 0.3

Continuación tabla III.

<i>Escalopa (Argopecten aequisulcatus)</i>	3		
ORGANISMO	n	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Otoño 2003			
Bahía de todos Santos (zona III)			
Productores primarios y materia orgánica			
MOP	6	-17.6±0.4	10.4±1.4
<i>Ulva lactuca</i>	3	-12.1±0.5	9.0±0.0
Invertebrados			
Misidáceos	4	-13.8±2.7	13.3±1.3
Estero de Punta Banda (Zona I)			
Productores primarios y materia orgánica			
MOP	3	-15.7±0.1	11.1±0.2
<i>Zostera marina</i>	3	-8.9±0.2	6.6±0.2
<i>Enteromorpha</i> sp.	1	-10.4	11.1
Epífitas sobre pasto	1	-9.8	8.8
Invertebrados			
Caracol (<i>Bulla gouldiana</i>)	3	-14.5±0.1	11.9±0.1
<i>Escalopa (Argopecten aequisulcatus)</i>	3	-15.4±0.1	10.3±0.1
Misidáceos	7	-8.8±0.5	11.2±0.2
Peces			
Gobios (<i>Ilypnus gilberti</i>)	6	-11.9±1.0	13.0±0.5
Pez pipa (<i>Syngnathus leptorhynchus</i>)	3	-9.3±1.5	12.9±0.4
Estero de Punta Banda (zona II)			
Productores primarios y materia orgánica			
MOP	6	-22.8±0.9	3.7±1.2
MOS	6	-22.7±1.3	4.8±0.9
<i>Zostera marina</i>	3	-9.3±0.2	7.9±0.8
<i>Ulva lactuca</i>	1	-14.5	10.4
<i>Enteromorpha</i> (prob. intestinalis)	1	-14.0	10.6
Invertebrados			
Caracol (<i>Bulla gouldiana</i>)	3	-10.2±0.3	11.1±0.1
<i>Escalopa (Argopecten aequisulcatus)</i>	3	-20.3±0.1	7.7±0.1
Peces			
Gobios (<i>Ilypnus gilberti</i>)	5	-12.5±0.7	12.9±0.3
Pez pipa (<i>Syngnathus leptorhynchus</i>)	3	-10.2±2.3	12.9±0.2

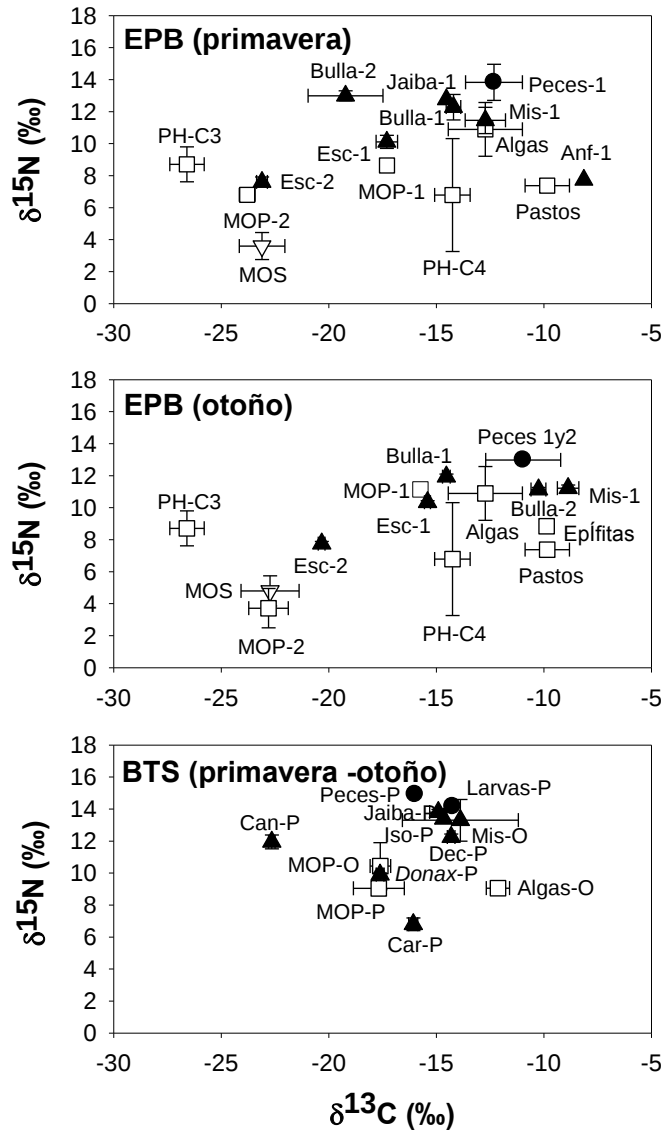


Figura 4. Valores promedio ($\pm$ DE) de la $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de productores primarios, invertebrados y peces que forman parte de la cadena alimentaría del Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos. Productores primarios ($\square$), MOS (∇) y las diferentes especies de invertebrados ($\blacktriangle$) y peces ($\bullet$). Estas gráficas no incluyen valores para el lenguado de California. 1 = Zona I, 2 = Zona II, P = primavera, O= otoño, PH-C3 =plantas de humedal C-3, PH-C4 plantas de humedal C-4, Mis = Misidáceos, Esc = Escalopa, Anf= Anfípodos, Can = cangrejo, Car = Caracol, Iso = Isopódos, Dec= Decápodos. Los puntos en los cuales no se observan desviaciones estándar son aquellos en los cuales sólo se contaba con una muestra y en los que la desviación estándar es tan pequeña, que está cubierta por el símbolo.

La diferencia en $\delta^{13}\text{C}$ entre zonas ($-17.2 \pm 0.1 \text{ ‰}$ zona I y $-23.7 \pm 0.3 \text{ ‰}$ zona II) en primavera fue de 6.5 ‰ , mientras que en otoño ($-15.7 \pm 0.1 \text{ ‰}$ y $-22.8 \pm 0.9 \text{ ‰}$, respectivamente) fue de 7.1 ‰ . Los valores más negativos se obtuvieron en la región interior del estero. La diferencia en $\delta^{13}\text{C}$ de la MOP entre la bahía y la zona I del estero en primavera fue mucho menor (0.4 ‰) que la observada con respecto a la zona II (6.2 ‰). Este comportamiento fue consistente con lo observado en otoño, presentándose una diferencia en $\delta^{13}\text{C}$ entre la bahía y la zona I de 1.9 ‰ y de 5.2 ‰ con respecto a la zona II. Estas diferencias pueden deberse a que la zona I está localizada cerca de la boca del Estero de Punta Banda, una región del sistema con un alto nivel de intercambio con la Bahía de Todos Santos. En general, las diferencias observadas en la composición isotópica de carbono de la MOP variaron mucho más que la de nitrógeno.

A diferencia de los valores isotópicos obtenidos para el MOP, en la materia orgánica del sedimento (MOS) no se observaron diferencias entre períodos de muestreo. Las muestras tomadas en otoño ($-22.7 \pm 1.3 \text{ ‰}$) presentaron un enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ de sólo 0.4 ‰ con respecto a las tomadas en primavera ($-23.1 \pm 1 \text{ ‰}$). Este comportamiento fue consistente para $\delta^{15}\text{N}$, presentándose un enriquecimiento de tan sólo 1.2 ‰ en otoño ($4.8 \pm 0.9 \text{ ‰}$) con respecto a primavera ($3.6 \pm 0.8 \text{ ‰}$).

Las plantas de humedal C-3 como *Batis maritima*, *Frankenia grandifolia*, *Salicornia virginica* y *Suaeda californica* mostraron un rango de valores de -25.5 a -27.2 ‰ para

carbono y de 7.8 a 10.1 ‰ para nitrógeno. De las cuatro especies de plantas C-3 analizadas, *Frankenia grandifolia* fue la que presentó menor enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ (-27.2 ± 0.5 ‰), mientras que la más enriquecida fue *Batis maritima* (-25.5 ± 0.3 ‰). Para el $\delta^{15}\text{N}$, el menor enriquecimiento se observó en *Salicornia virginica* y *Frankenia grandifolia* (7.8 ± 1.1 ‰), mientras que *Suaeda californica* (10.1 ± 1.7 ‰) fue la más enriquecida. En plantas de humedal C-4 (*Spartina foliosa* y *Monanthocloe littoralis*) se establecieron valores de $\delta^{13}\text{C}$ de -13.6 ± 0.3 ‰ y -14.8 ± 0.1 ‰ en $\delta^{13}\text{C}$ y de 9.2 ± 0.3 ‰ y 4.2 ± 1.4 ‰ en $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente.

Se observaron pequeñas diferencias en la composición isotópica de *Zostera marina* colectada en la zona I entre épocas de muestreo (Tabla III, Fig. 4), aunque los valores encontrados (-10.6 ± 0.8 ‰ y -8.9 ± 0.2 ‰ para carbono y 7.4 ± 0.1 ‰ y 6.6 ± 0.2 ‰ para nitrógeno) son consistentes con el rango de valores reportados en la literatura (Fry y Sherr, 1984). En primavera, el pasto colectado en la zona I estuvo menos enriquecido en $\delta^{13}\text{C}$ (1.7 ‰) que en otoño y más enriquecido en $\delta^{15}\text{N}$ (0.8 ‰). En otoño, el pasto presentó un ligero enriquecimiento con respecto al colectado en la zona II (0.4 ‰ en $\delta^{13}\text{C}$ y 1.3 ‰ en $\delta^{15}\text{N}$). La composición isotópica del pasto seco y degradado que fue colectado en la Bahía de Todos Santos, y cuyo origen debe ser el Estero de Punta Banda, fue distinta a la de las plantas frescas (-14.2 ± 2.7 ‰ para carbono y 8.2 ± 0.7 ‰). Esto es consistente con el efecto de la degradación bacteriana sobre la composición isotópica de pastos marinos (Zieman et al. 1984). Las algas epífitas sobre pastos marinos

presentaron una composición isotópica de -9.8 ‰ para carbono y 8.8 ‰ para nitrógeno.

El rango de valores establecidos para las macroalgas varió entre grupos taxonómicos. Sin embargo, se establecieron diferencias entre *Ulva lactuca* colectada en la bahía y en la zona II del estero en otoño (-12.1 ± 0.5 y 9 ± 0.0 ‰ vs. -14.5 ‰ y 10.4 ‰, para carbono y nitrógeno respectivamente). *Ulva lactuca* colectada en la bahía presentó un enriquecimiento de 2.4 ‰ en $\delta^{13}\text{C}$ y 1.4 ‰ en $\delta^{15}\text{N}$ en comparación con la colectada en el estero. De todas las macroalgas analizadas, *Enteromorpha* sp. (-10.4 ‰), colectada en el estero en la zona I durante el otoño, fue la más enriquecida en $\delta^{13}\text{C}$ y *Ulva lactuca* colectada en el estero en la zona II durante la misma época fue la que exhibió el menor enriquecimiento (-14.5 ‰). Estas últimas también presentaron el menor enriquecimiento en $\delta^{15}\text{N}$ (10.4 ‰), mientras que la alga más enriquecida fue *Enteromorpha* (prob. *intestinales*; 12.9 ‰) colectada en la zona I del estero en primavera.

VI. 1. 2. Consumidores

Los invertebrados analizados en este estudio presentaron una amplia variabilidad en $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (Tabla III, Fig. 4). Los misidáceos, que constituyen una fuente de alimento importante para los juveniles de lenguado de California (Sandoval-Muy 1995) mostraron variaciones estacionales en sus valores de $\delta^{13}\text{C}$ dentro del Estero de Punta Banda. En la zona I, se observaron valores más enriquecidos en otoño (-

$8.8 \pm 0.5 \text{ ‰}$ vs $-12.7 \pm 0.9 \text{ ‰}$). Sin embargo, la $\delta^{15}\text{N}$ no varió de un período de muestreo al otro ($11.4 \pm 0.8 \text{ ‰}$ en primavera vs. $11.2 \pm \text{‰}$ en otoño).

El caracol *Bulla gouldiana*, un microherbívoro que se alimenta de diatomeas bentónicas y detritus proveniente de fondos lodosos y tapetes algales presentó una amplia variación espacial en la $\delta^{13}\text{C}$ ($-14.2 \pm 0.3 \text{ ‰}$ para la zona I y $-19.2 \pm 1.7 \text{ ‰}$ para la zona II, en primavera y $-14.5 \pm 0.1 \text{ ‰}$ y $-10.2 \pm 0.3 \text{ ‰}$ respectivamente, en otoño). La diferencia en el $\delta^{13}\text{C}$ de *Bulla* entre las dos zonas del estero fue de 5.0 ‰ en primavera y 4.3 ‰ en otoño. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ también presentaron diferencias entre zonas, aunque no tan amplias como para el carbono (0.7 ‰ y 0.8 ‰ en primavera y otoño). El valor promedio de $\delta^{15}\text{N}$ para *Bulla* en el estero fue de $12.6 \pm 0.5 \text{ ‰}$ en primavera y $11.5 \pm 0.6 \text{ ‰}$. También se observaron variaciones estacionales importantes en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *Bulla* colectado en la zona II del Estero de Punta Banda, presentando una diferencia de 9.0 ‰ entre primavera y otoño, mientras que para $\delta^{15}\text{N}$ la diferencia sólo fue 1.8 ‰ . Esta variabilidad tan amplia en carbono sólo se observó en la zona II.

La almeja del género *Escalopa* presentó diferencias en su composición isotópica entre zonas del Estero de Punta Banda y entre épocas del muestreo ($-17.3 \pm 0.5 \text{ ‰}$ para la zona I y $-23.1 \pm 0.2 \text{ ‰}$ para la zona II, en primavera y $-15.4 \pm 0.1 \text{ ‰}$ y $-20.3 \pm 0.1 \text{ ‰}$, respectivamente, en otoño). Las diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ entre zonas fue de 5.8 ‰ en primavera y 4.9 ‰ en otoño, mientras que las diferencias en $\delta^{15}\text{N}$ fueron de 2.5 ‰ y 2.6 ‰ . Las diferencias estacionales fueron de 1.9 ‰ en carbono

y 0.2 ‰ en nitrógeno en la zona I, y de 2.8 ‰ y 0.1 ‰ en la zona II. La variabilidad estacional presentada por estos organismos filtradores refleja los valores de la MOP.

Los invertebrados más enriquecidos en $\delta^{13}\text{C}$ fueron los anfípodos colectados en la zona I en primavera (-8.1 ‰). La escalopa colectada en la zona II en esta misma época, fue la que presentó menor enriquecimiento tanto en $\delta^{13}\text{C}$ como en $\delta^{15}\text{N}$ ($-23.1 \pm 0.2\text{‰}$ y 7.6 ‰). El mayor enriquecimiento en $\delta^{15}\text{N}$ se presentó en el caracol *Crucibulum spinosum* colectada en la bahía en primavera ($6.8 \pm 0.4 \text{‰}$).

Los peces (diferentes al lenguado de California) colectados en la Bahía de Todos Santos y el Estero de Punta Banda también presentaron diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (Tabla III, Fig. 4). El intervalo de valores promedio ($\pm$ DE) obtenido para las distintas especies de peces fue de $-9.3 \pm 1.5 \text{‰}$ a -15.9‰ para carbono y de $12.9 \pm 0.4 \text{‰}$ a 15.4‰ para nitrógeno. Los gobios, peces pipa y blénidos son presas importantes para el lenguado de California durante el estadio juvenil en el Estero de Punta Banda (Sandoval-Muy 1995). Los gobios sólo mostraron diferencias de 0.5 ‰ en $\delta^{13}\text{C}$ y de 0.1 ‰ en $\delta^{15}\text{N}$ entre los períodos de muestreo en la zona I del estero y de 0.6 y 0.1 ‰ entre áreas dentro del estero en otoño (Tabla III). El valor promedio de todos los gobios colectados fue de $-12.2 \pm 0.9 \text{‰}$ para carbono y $13 \pm 0.5 \text{‰}$ para nitrógeno. Al igual que los gobios, los peces pipa también mostraron diferencias espaciales y temporales (Tabla III), aunque esta especie no es la presa más común del lenguado de California.

De las seis especies de peces analizadas para este estudio, el mayor enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ se observó en los peces pipas capturados en la zona I en otoño ($-9.3 \pm 1.5 \text{ ‰}$), mientras que los blénidos capturados en esta misma zona durante primavera mostraron el mayor enriquecimiento en $\delta^{15}\text{N}$ ($15.4 \pm 0.0 \text{ ‰}$). En contraste, el lenguado moteado, *Pleuronichthys ritteri*, capturado en la bahía en primavera presentó el menor enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ (-15.9 ‰), mientras que en $\delta^{15}\text{N}$ ($12.9 \pm 0.4 \text{ ‰}$) los menos enriquecidos fueron los peces pipas colectados en la zona I en otoño. En general, los peces mostraron un mayor enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ que los invertebrados.

VI. 1. 2. 1. *Paralichthys californicus*

En la Bahía de Todos Santos, sólo se capturaron peces en el otoño, los cuales tuvieron un rango de tallas de 68 a 320 mm L_E . La $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ vs. L_E y peso húmedo (Ph) de los peces colectados en la bahía en el otoño se muestra en la figura 5. La mayoría de los peces analizados tuvieron una $\delta^{13}\text{C}$ promedio de $-15.0 \pm 0.1 \text{ ‰}$, mientras que tan sólo tres tuvieron una composición isotópica entre -12.4 y 13.7 ‰ . En el caso de $\delta^{15}\text{N}$ se observaron dos grupos de peces: unos con una composición de ca. 12.5 ‰ y otros de ca. 14.5 ‰ .

El rango de tallas de los juveniles colectados en el Estero de Punta Banda en primavera fue de de 85 a 154 mm L_E , mientras que los peces colectados en otoño mostraron un rango de tallas de 38 a 160 mm L_E , lo cual indica la inmigración estuarina de juveniles tempranos antes del otoño. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de

los peces capturados en el estero fueron más variables que los colectados en la Bahía de Todos Santos (Fig. 5). En primavera, los peces en el estero tuvieron valores isotópicos de -12.1 y -15.9 ‰ para carbono y 12.7 y 15.3 ‰ para nitrógeno (Fig. 6). En otoño, los intervalos de valores fueron de -10.4 a -15.0 ‰ para carbono y de 11.6 a 15.3 ‰ para nitrógeno (Fig. 7).

En general, los lenguados de California mostraron una composición isotópica similar a la composición isotópica promedio de las otras especies de peces colectadas en el Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos (Fig. 8). La composición isotópica promedio por zona durante la primavera fue de -12.9 ± 0.8 ‰ para carbono y de 14.5 ± 0.8 ‰ para nitrógeno en la zona I y de -14.1 ± 0.8 ‰ y 14.6 ± 0.6 ‰ en la zona II. Los valores de carbono de la zona I, mostraron un mayor enriquecimiento, aunque los valores de nitrógeno fueron similares. La composición isotópica promedio en otoño fue de -13.2 ± 1.3 ‰ para carbono y 13.6 ± 0.5 ‰ para nitrógeno en la zona I y de -13.1 ± 1.2 ‰ y 14.1 ± 0.8 ‰ para la zona II.

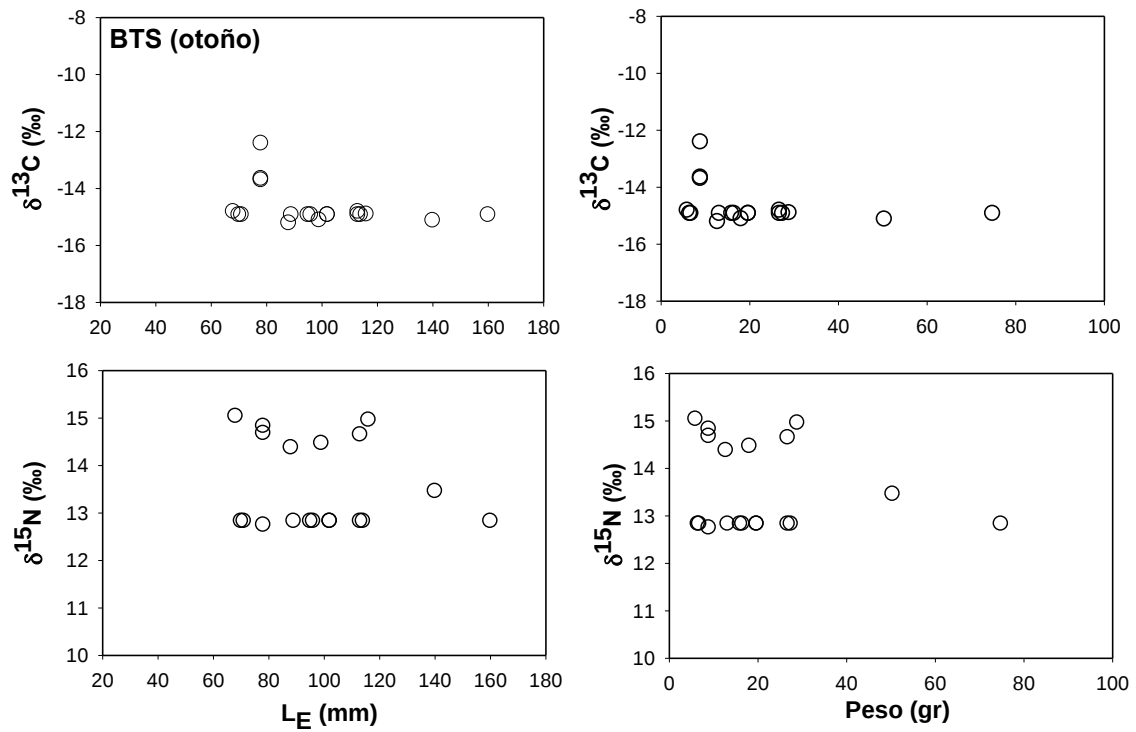


Figura. 5. $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ vs. longitud estándar (mm) y peso húmedo (gr) de juveniles de lenguado de California colectados en la Bahía de Todos Santos en otoño del 2003.

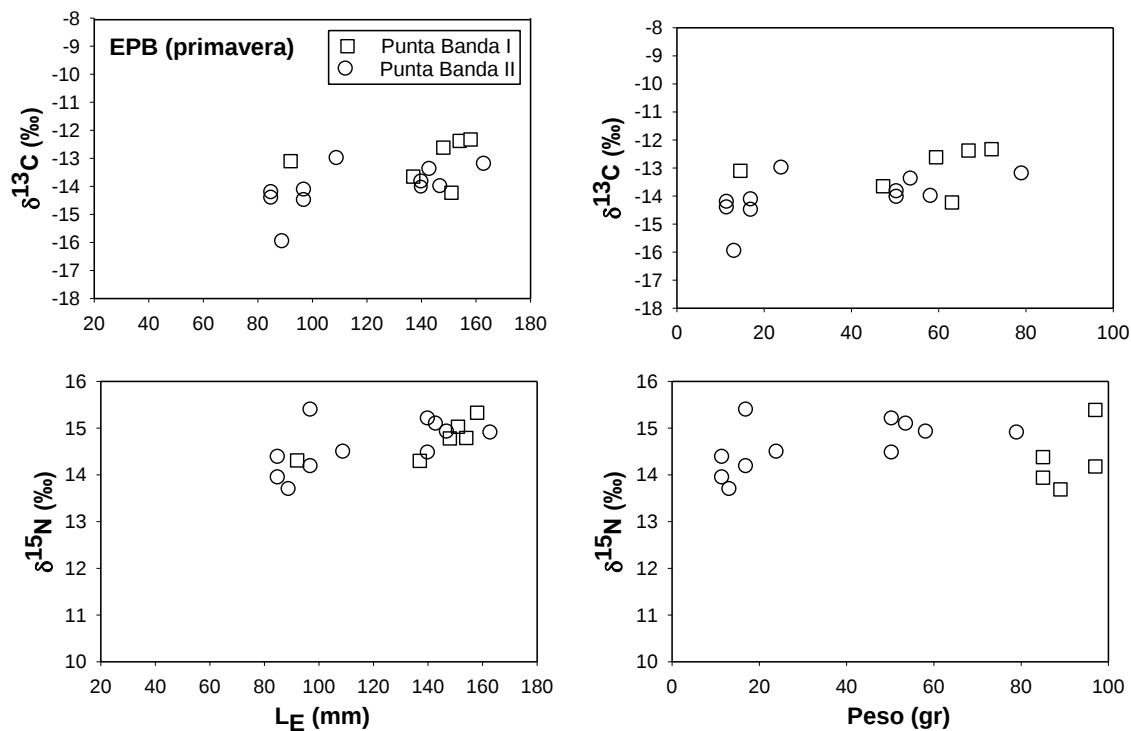


Figura 6. $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ vs. L_E (mm) y peso (gr) de juveniles de lenguado de California colectados en el Estero de Punta Banda en primavera del 2003.

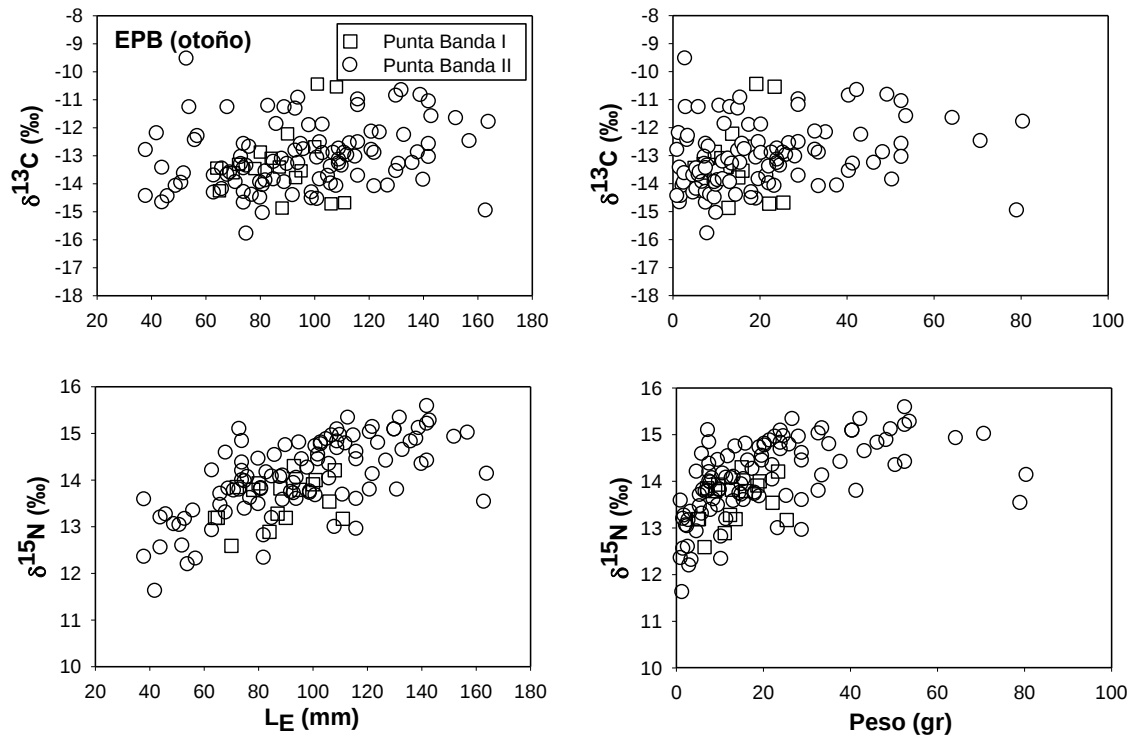


Figura 7. $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ vs. L_E (mm) y peso (gr) de juveniles de lenguado de California colectados en el Estero de Punta Banda en otoño del 2003.

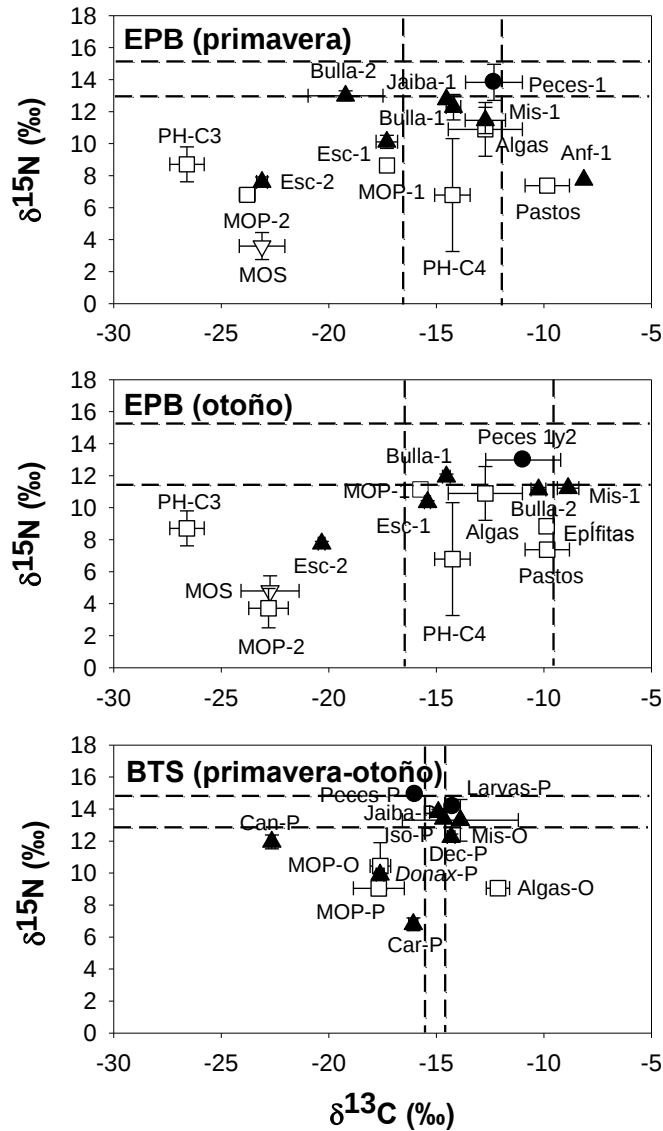
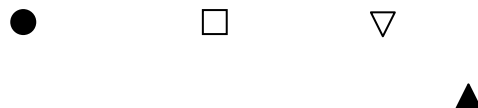


Figura 8. Valores promedio ($\pm$ DE) de la $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de productores primarios, invertebrados y peces que forman parte de la cadena alimentaria del Estero de Punta Banda y la Bahía de Todos Santos. Productores primarios ($\square$), MOS (∇) y las diferentes especies de invertebrados ($\square$), $\blacktriangle$ peces ($\bullet$). $\bullet$ = Zona I, 2 = Zona II, P = primavera, O = otoño, PH-C3 = plantas de humedal C-3, PH-C4 plantas de humedal C-4, Mis = Misidáceos, Esc = Escalopa, Anf = Anfípodos, Can = cangrejo, Car = Caracol, Iso = Isópodos, Dec = Decápodos. Las líneas discontinuas indican el rango de valores de la $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de juveniles de *Paralichthys californicus*.



VI. 2. Experimentos de laboratorio

VI. 2. 1. Experimento de recambio isotópico

Dada la ausencia de diferencias en la composición isotópica de nitrógeno entre la *Artemia* y los misidáceos, sólo fue posible evaluar la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico a la tasa de cambio isotópico para el carbono. En total, se determinó la composición isotópica de 78 individuos en función de su incremento relativo en biomasa.

El porcentaje de mortalidad de los peces inmediatamente después del marcaje y antes de cambio de dieta fue de 13.7 % a 15 °C, 8.3 % a 18 °C y 6.2 % a 24 °C. El porcentaje de mortalidad a lo largo del experimento para cada temperatura (incluyendo la causada por el proceso de marcaje), fue de 25.0, 18.0 y 13.3 %, a 15, 18 y 24 °C, respectivamente.

Los juveniles del lenguado de California cultivados a 24 °C crecieron más rápidamente que los criados a 15 y 18 °C. A 24 °C crecieron de 27.25 a 55.65 mm L_E promedio (0.345 a 2.086 gr peso húmedo) durante los 32 días que duró el experimento en ese tanque (Fig. 9). El rango de tallas de los peces cultivados a 18 °C fue de 25.25 mm L_E al principio a 51.0 mm L_E al final del experimento en el día 40 (0.246 a 1.558 gr). Los juveniles cultivados a 15 °C fueron los que crecieron más lentamente (27.15 a 45.20 mm L_E; 0.288 a 1.299 gr en 50 días).

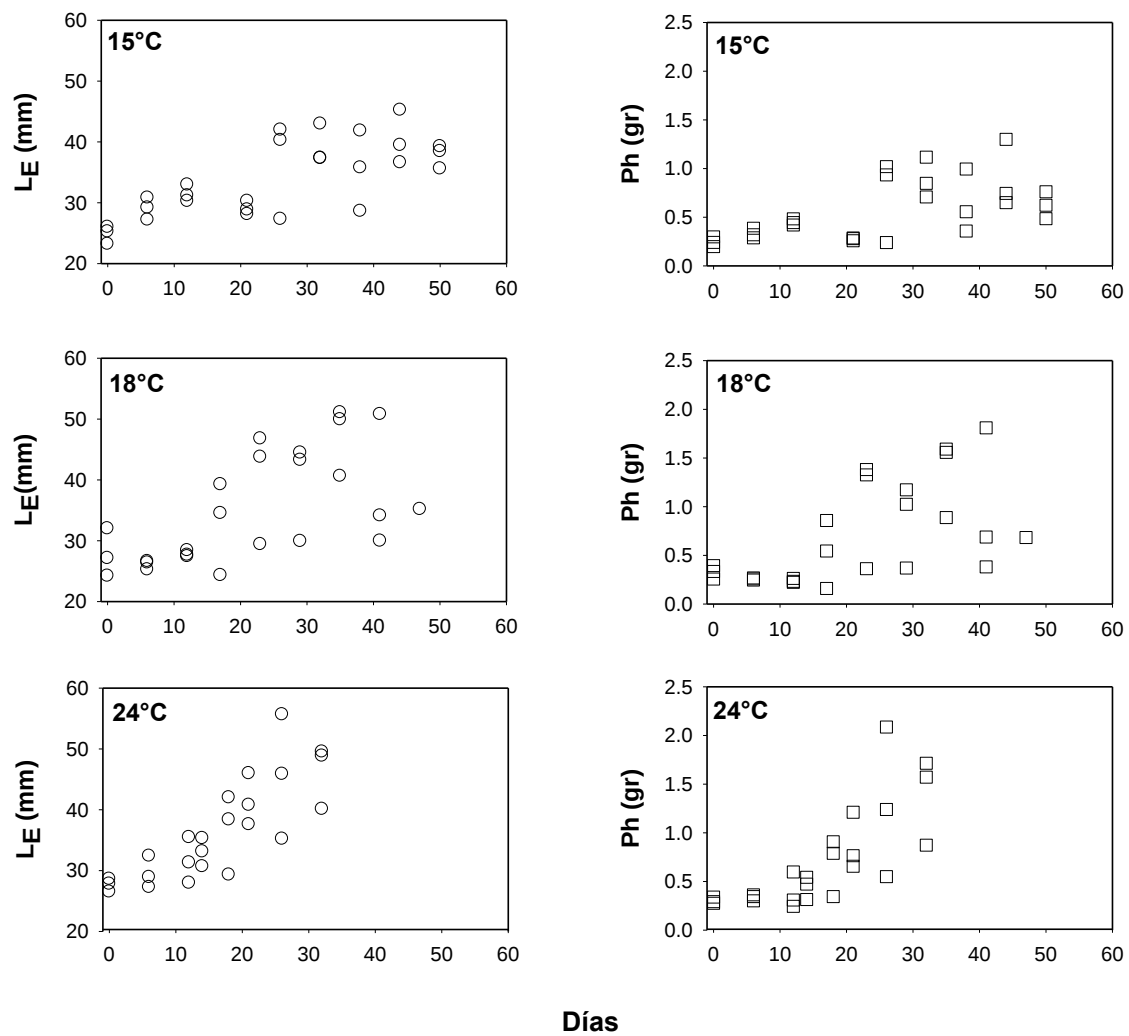


Figura. 9. Incremento en peso y longitud de juveniles de lenguado de California a través del tiempo durante el experimento de recambio isotópico. L_E :longitud estándar y Ph: peso húmedo.

El incremento en peso y longitud de los peces a través del tiempo mostró mucha variabilidad, probablemente debido al amplio rango de tallas (19.30 - 36.40 mm L_E) y pesos (0.106 - 0.510 gr) de los juveniles empleados al principio del experimento y como resultado de la variabilidad natural en las tasas de crecimiento entre individuos de una misma cohorte durante los estadios tempranos del ciclo de vida.

Algunos individuos no crecieron durante el transcurso del experimento, por lo cual fueron excluidos durante el proceso de ajuste de los datos a la ecuación de Fry y Arnold (1982) (Fig. 10). En total, fueron excluidos 3, 5 y 1 a 15, 18 y 24°C, respectivamente. Los primeros cambios en la composición isotópica de $\delta^{13}C$ en el tejido de los juveniles de lenguado hacia la composición isotópica de los misidáceos (-31.4 ‰) se observaron entre 12 y 14 días después de iniciar el experimento (Fig. 11). Este comportamiento fue similar a las tres temperaturas, y puede ser consecuencia de un desfase temporal en el consumo de la nueva dieta y por ende de cambios en la composición isotópica.

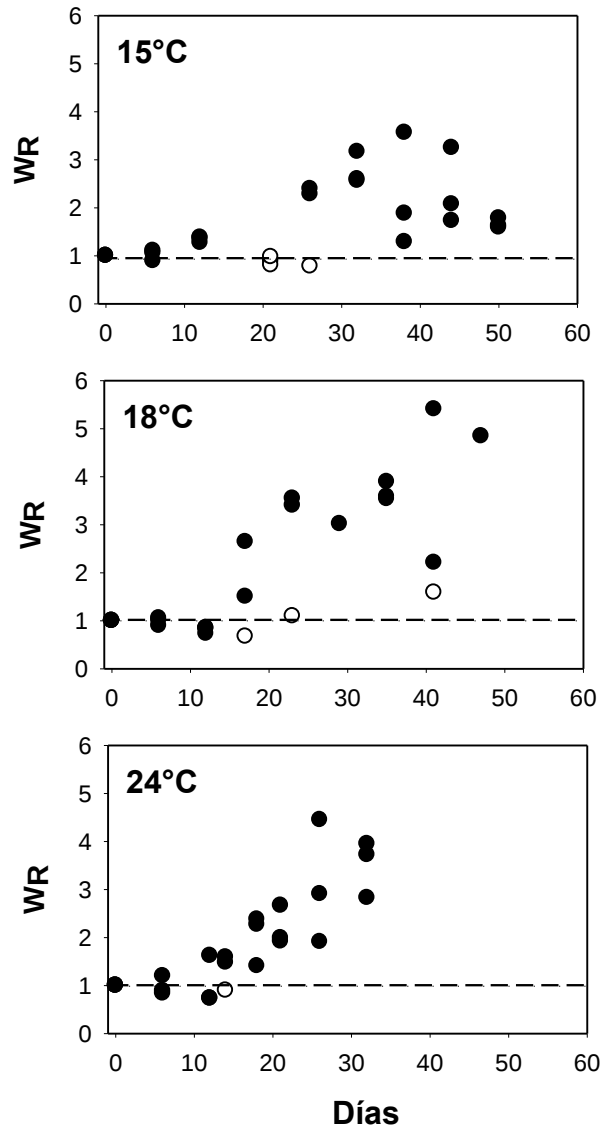


Figura 10. Incremento relativa en biomasa (W_R) de juveniles de lenguado de California a través del tiempo durante los experimentos de recambio isotópico. La línea discontinua indica una $W_R = 1$. Los puntos claros representan los peces que no crecieron ($WR < 1$).

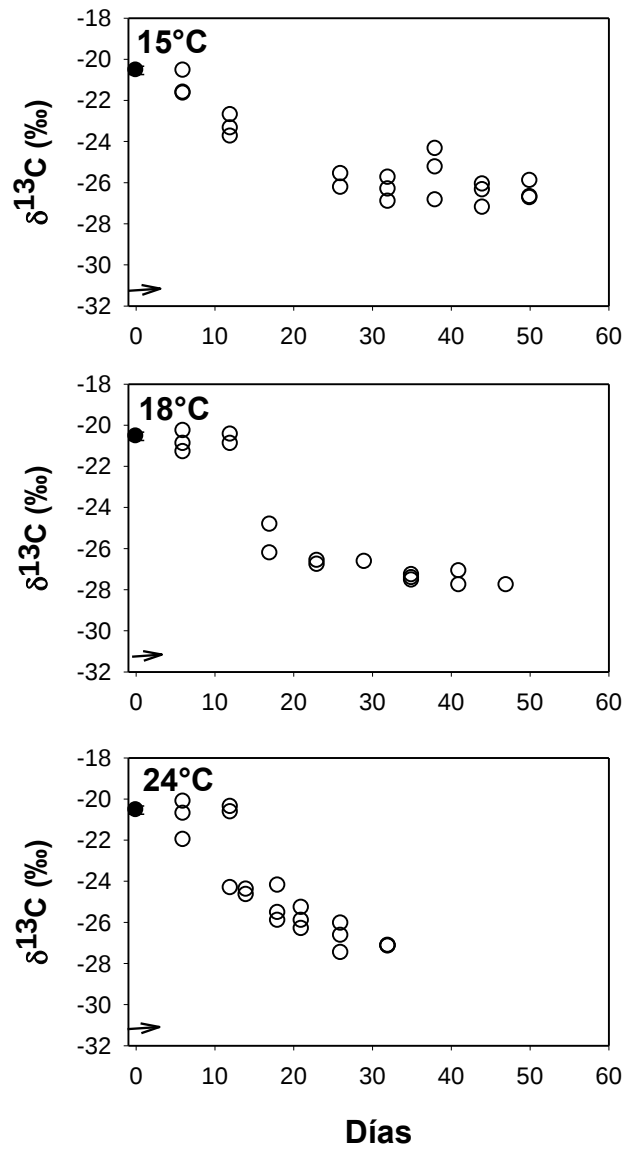


Figura. 11. Cambio en $\delta^{13}\text{C}$ a través del tiempo en juveniles de lenguado después de un cambio de dieta. El punto negro en el día 0 representa la $\delta^{13}\text{C}$ promedio de todos los peces antes de cambio de dieta (-20.5 ± 0.2 ‰ DE). Las flechas indican la composición isotópica de los misidos (-31.4 ‰).

Considerando que el enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ mostrado por los peces con respecto al alimento inicial (*Artemia franciscana*) fue de 1.6 ‰ (Tabla I), el valor de equilibrio correspondiente a una alimentación sobre misidáceos debió ser de -29.9 ‰ (δ_i). Sin embargo, el valor promedio obtenido en el último muestreo en cada tanque fue de -27.5 ‰. Esto representaría un fraccionamiento de ca. 3.9 ‰ para carbono, lo cual está por encima de los valores reportados en la literatura (DeNiro y Epstein 1978, Tieszen et al. 1983, Herzka y Holt 2000). Por lo tanto, los peces no alcanzaron a equilibrarse durante el transcurso de los experimentos a las tres temperaturas.

A pesar de la falta de equilibrio, la tasa de cambio isotópica bajo las tres temperaturas fue marcadamente distinta. Los peces a 24 °C requirieron de aproximadamente de 26 a 32 días para alcanzar valores de -27.5 ‰, mientras que los peces a 18 °C necesitaron de 35 a 41 días y los peces a 15 °C de 44 a 50 días (Fig. 11). La diferencia en el tiempo para llegar a -27.5 ‰ entre la temperatura más alta y la más baja fue de 18 días. Esto es consistente con el patrón general observado en las tasas de crecimiento en cada tanque.

VI.2. 1.1. Contribución del crecimiento y recambio metabólico

La $\delta^{13}\text{C}$ en los peces expuestos a las tres temperaturas mostró un patrón similar en relación a los cambios en la composición isotópica asociada al incremento relativo en biomasa. Los cambios en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ empezaron a hacerse

evidentes una vez que los peces alcanzaron aproximadamente un incremento relativo en biomasa de 1.5 (Fig. 12).

Bajo las tres temperaturas, el patrón de cambio isotópico fue similar al predicho con el modelo de dilución simple. Los valores de c derivados del ajuste no lineal con la ecuación de Fry y Arnold (1982) para cada temperatura se muestran la Tabla IV. Las pruebas t de Student demostraron que los coeficientes de recambio metabólico obtenidos para cada temperatura no fueron significativamente diferentes de -1 ($p > 0.01$) (Tabla V). No se encontraron diferencias significativas entre temperaturas para el valor de c ($p > 0.01$) (Tabla VI). Estos resultados implican que no hubo un efecto significativo del recambio metabólico en la tasa de recambio isotópico en juveniles de lenguado. Para los peces de los tanques a 18 y 24 °C, más del 95% de cambio isotópico fue explicado por la adición de nueva biomasa. A 15 °C, sólo el 89 % de cambio fue atribuido al crecimiento.

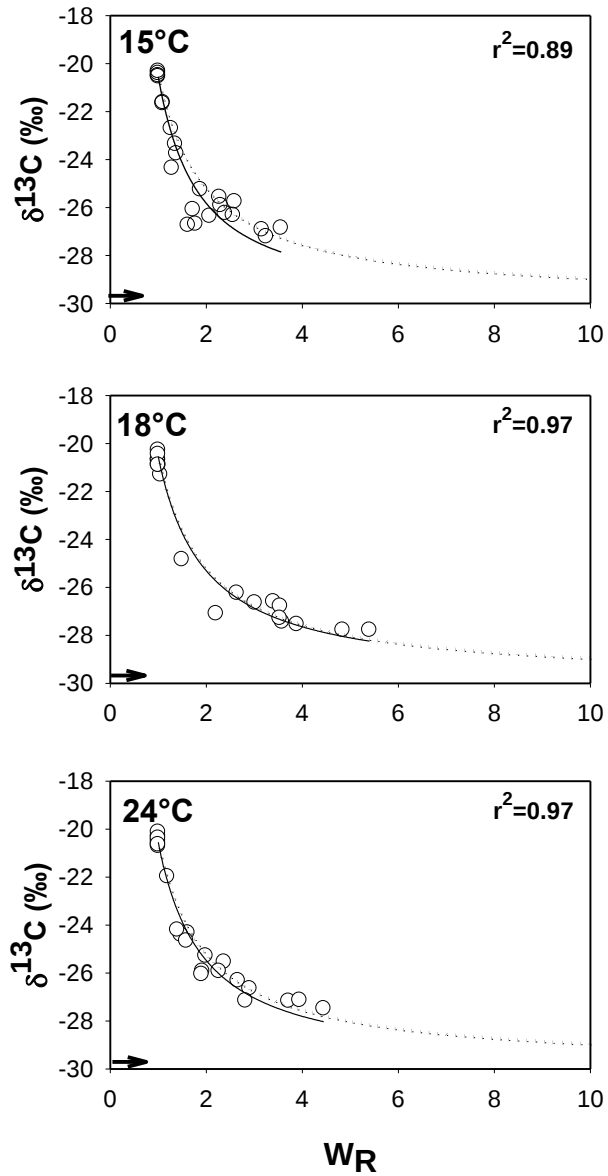


Figura. 12. Cambio en $\delta^{13}\text{C}$ de los juveniles de lenguado después de un cambio de dieta. El incremento en biomasa relativa esta expresado con base a la ecuación $W_R = W_t/W_i$. La línea continua representa el ajuste con la ecuación de Fry y Arnold (1982). La línea discontinua representa el patrón de cambio en la composición isotópica predicho con el modelo de dilución simple (valor de $c = -1$). Las flechas indican la composición isotópica final de los peces si hubiesen alcanzado el equilibrio con los misidáceos (-29.9‰).

Tabla IV. Valores del coeficiente de recambio metabólico (c), obtenidos ajustando los resultados de los experimentos de laboratorio a la ecuación de Fry y Arnold (1982). EE: error estándar.

Temperatura °C	c	EE
15	-1.19	0.46
18	-1.02	0.30
24	-1.07	0.20

Tabla V. Comparaciones estadísticas entre los valores de los coeficientes de recambio metabólico (c) obtenidos a tres temperaturas utilizando la ecuación de Fry y Arnold (1982) y $c = -1$ (modelo de dilución simple). Para esta comparación se utilizó una prueba t Student con un $\alpha=0.016$ (corrección de Bonferroni). gl: grados de libertad, ns: no significativo.

Comparación de c y -1	gl	t	Nivel de p	c $\neq$ -1
15 °C	21	-0.40	-2.518	ns
18 °C	17	-0.06	-2.567	ns
24 °C	21	-0.34	-2.518	ns

Tabla VI. Resultados estadísticos obtenidos al evaluar si existían diferencias significativas entre los valores de c obtenidos bajo distintas temperaturas. Para esta comparación se utilizó una prueba t de Student con un $\alpha=0.016$ (corrección de Bonferroni). gl: grados de libertad; ns: no significativo.

Comparación de c entre temperaturas	gl	t	Nivel de p	Diferencias entre temperaturas
15 vs 18 °C	40	-0.29	-2.423	ns
15 vs 24 °C	44	-0.24	-2.423	ns
18 vs 24 °C	40	-0.14	-2.423	ns

VI.2.1.2. Estimación de la tasa de recambio isotópico

No se pudieron utilizar las tasas de crecimiento obtenidas en el laboratorio para estimar la ventana de oportunidad para la detección de reclutas recientes debido a la gran variabilidad en las tallas de los individuos capturados simultáneamente y al limitado número de peces que se colectó. Por otro lado, en algunas ocasiones las tasas de crecimiento obtenidas bajo condiciones controladas de cultivo no reflejan las del medio natural. Por lo tanto, se utilizaron las tasas de crecimiento reportadas por Kramer (1991b) para modelar el tiempo necesario para que individuos de distintas tallas llegaran al equilibrio con una nueva fuente de alimento. Este estudio presenta las tasas de crecimiento promedio de lenguados capturados en zonas costeras y estuarinas obtenidas por medio del análisis de otolitos de peces de tallas similares a los empleados en el presente trabajo (16 a 70 mm L_E). Además, es el único reporte en la literatura que incluye un modelo de crecimiento para esta etapa del ciclo de vida en esta especie.

Se seleccionaron longitudes estándar de 10, 20, 30, 40, 50, 60, y 70 mm L_E para modelar el patrón temporal de recambio isotópico después de un cambio de dieta. Estas longitudes representan el intervalo de tallas en la cual esta especie puede inmigrar a sistemas estuarinos (Kramer 1990). Para cada talla, se calculó la edad inicial y las edades posteriores a intervalos de 1 mm utilizando la relación edad (días)-longitud estándar (mm) descrita por Kramer (1991 b):

$$\text{Edad} = -90.90 * (\ln(1 - 0.2096 * \ln(0.4395 * L_E))) \quad (8)$$

la cual deriva de la función de crecimiento de Gompertz. Así mismo, se estimó el peso húmedo en función de la talla utilizando una relación longitud (L_E)-peso húmedo (gr) obtenida del ajuste de los datos de campo obtenidos en este estudio a un modelo exponencial de acuerdo a la siguiente ecuación: $W = 0.0000256X^{2.915}$ (Fig. 13). El incremento relativo en biomasa (W_R) a través del tiempo fue estimado en función de la talla y la edad para cada talla pre-seleccionada (10 a 70 mm L_E). Los patrones de cambio isotópico fueron modelados utilizando la ecuación de Fry y Arnold (1982), utilizando un modelo de dilución simple ($c = -1$), y eligiendo composiciones isotópicas inicial y final de manera arbitraria (10 y 20 ‰, respectivamente). El porcentaje del carbono inicial restante en función del tiempo fue estimado y graficado para las distintas tallas (Fig. 14).

El tiempo requerido para que juveniles de lenguado de California se aproximen al equilibrio con una nueva fuente de alimento varió en función a la talla en la cual ocurrió la simulación del cambio de dieta. El tiempo estimado para aproximarse a un nuevo equilibrio isotópico (95 % de cambio en la composición isotópica) fue aproximadamente 1 mes (37 días) en el caso de un pez de 10 mm L_E , y esto ocurrió a una L_E de 30 mm. El tiempo requerido por un pez de 70 mm L_E fue de 1400 días, una vez que este alcanzó una L_E de 202 mm. Por lo tanto, el tiempo necesario para que un individuo de 70 mm L_E refleje un 95 % de cambio en su composición isotópica debería ser casi 3.8 veces mayor que el requerido por un pez de 10 mm L_E . Los peces de mayores longitudes requieren de más tiempo para alcanzar el equilibrio debido a que sus tasas de crecimiento son más lentas.

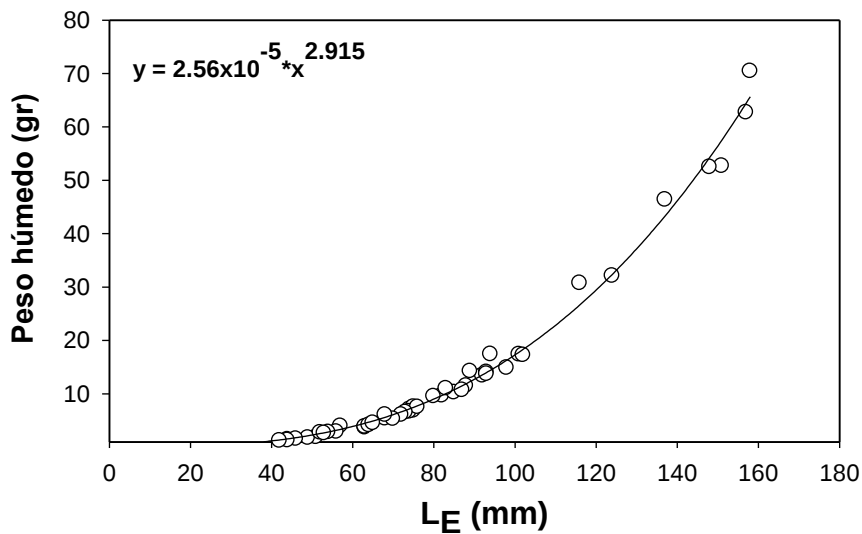


Figura 13. Relación longitud-peso de juveniles capturados en campo ($r^2=0.92$, $n=47$)

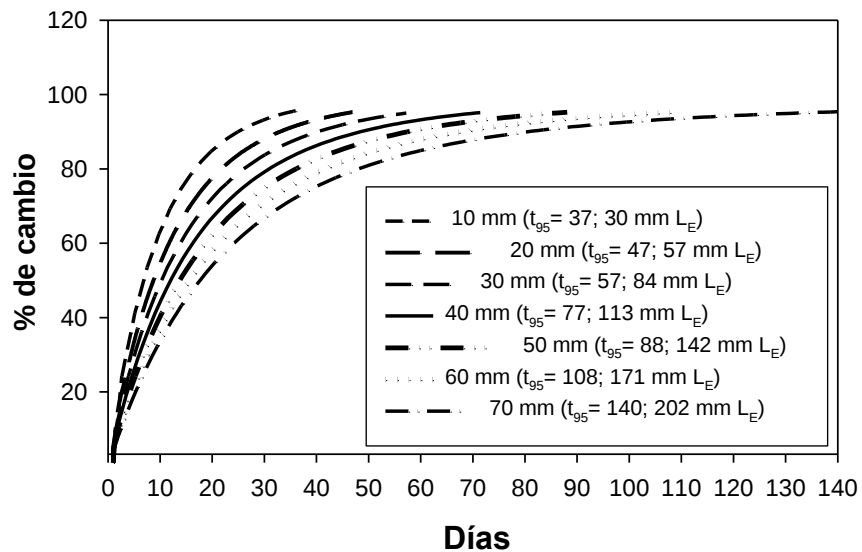


Figura 14. Tiempo requerido por juveniles de lenguado de California de diferentes tallas para equilibrarse con una nueva fuente de alimento. Las tallas en la leyenda representan la longitud en el momento del cambio de dieta. t_{95} representa el número de días requeridos y la L_E indican la talla en la cual los peces deberían llegar a un 95% de equilibrio con una nueva fuente de alimento.

VI. 2. 2. Experimento de Inanición

Con el propósito de evaluar si los juveniles de lenguado de California que experimentan largos períodos de inanición presentan cambios en $\delta^{13}\text{C}$ y/o $\delta^{15}\text{N}$ que pudiesen confundirse con los ocasionados por un cambio de dieta, la composición isotópica de los peces (51 individuos) obtenidos en los experimentos durante los cuales los peces no consumieron krill fueron evaluados a través del tiempo.

El cambio relativo en biomasa de los juveniles a lo largo del período de inanición de aproximadamente un mes se presentan en la figura 15. Los peces perdieron peso a lo largo del experimento ($\text{WR} < 1$), lo cual indica que no se alimentaron. Este comportamiento fue consistente a las tres temperaturas. Sólo un pez en el tanque mantenido a 18 °C mostró un incremento relativo en biomasa de 1.4 (40 % de incremento en peso). Este valor pudo ser resultado de un error durante el proceso de pesado o consecuencia del canibalismo, por lo cual este punto fue excluido del análisis de regresión. Adicionalmente, la composición isotópica de los peces no cambió hacia el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del krill (-29.6 y 7.6 ‰, respectivamente). Estos resultados también indican que los peces experimentaron condiciones de inanición durante el experimento.

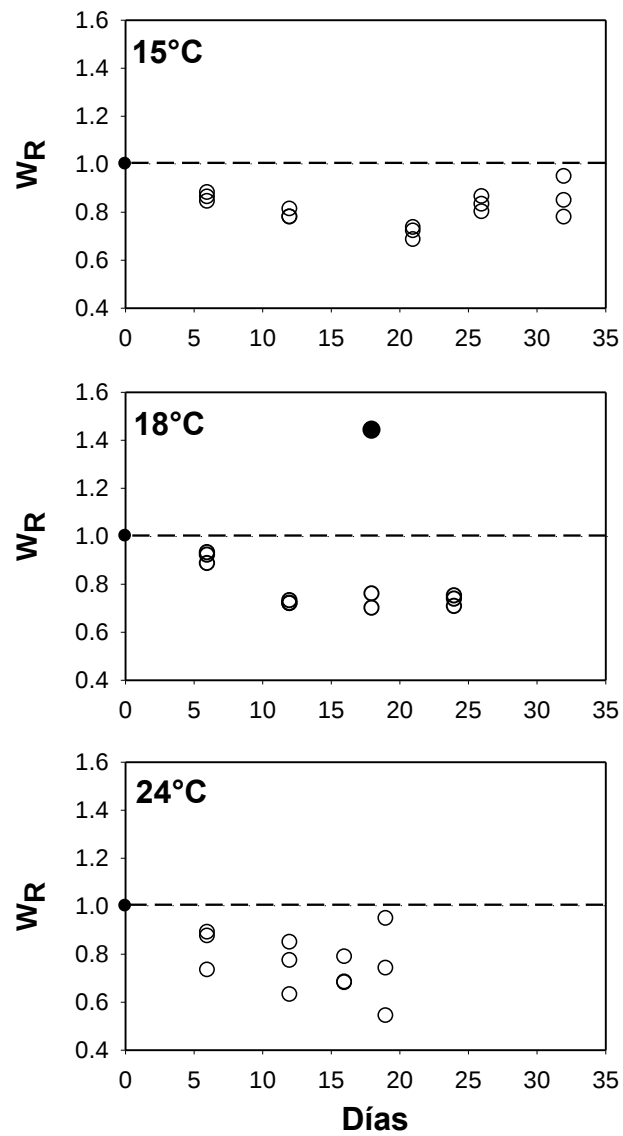


Figura. 15. Cambios relativos en biomasa (W_R) en juveniles de lenguado de California durante el experimento de inanición. El punto negro representa al único pez que mostró un incremento en biomasa. La línea discontinúa representa un $W_R = 1$ (ausencia de crecimiento).

Para evaluar si la composición isotópica de los peces cambió a través del tiempo con respecto a la composición isotópica promedio inicial ($\delta^{13}\text{C} = -20.5 \pm 0.2 \text{ ‰}$, $\delta^{15}\text{N} = 10.5 \pm 0.2 \text{ ‰}$), se empleó un análisis de regresión lineal simple con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ (Fig. 16 y 17). En un principio se intentó hacer el ajuste a través del intercepto predefinido por los valores promedios iniciales de los peces. Sin embargo, este procedimiento no funcionó porque no existía una relación lineal entre el cambio en la composición isotópica y el tiempo durante los primeros 6 días sin alimento. Los peces de los tanques a 15 y 18 °C presentaron un enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ del día 0 al día 6 de 0.3 ‰ y en el tanque a 24 °C de 0.4 ‰. Los peces mostraron un comportamiento similar en cuanto a $\delta^{15}\text{N}$, presentando una pérdida del isótopo pesado con un cambio 0.5 ‰ en el tanque a 15 °C, de 0.3 ‰ en el tanque a 18 °C y de 0.2 ‰ en el tanque a 24 °C. Por esta razón los resultados del primer muestreo se excluyeron del ajuste y se evaluaron los cambios en la composición isotópica después del día 6.

Las pendientes de las regresiones no fueron significativamente diferentes a cero, y por lo tanto, no indicaron cambios en $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ a través del tiempo después del día 6. La variabilidad en los valores isotópicos fue pobremente explicada por el tiempo, puesto que los coeficientes de determinación obtenidos fueron muy bajos. En general, el análisis de regresión tanto para el $\delta^{13}\text{C}$ como para $\delta^{15}\text{N}$ indicó que no hubo una relación significativa entre la composición isotópica y el período de privación del alimento, por lo menos durante el período empleado en este experimento.

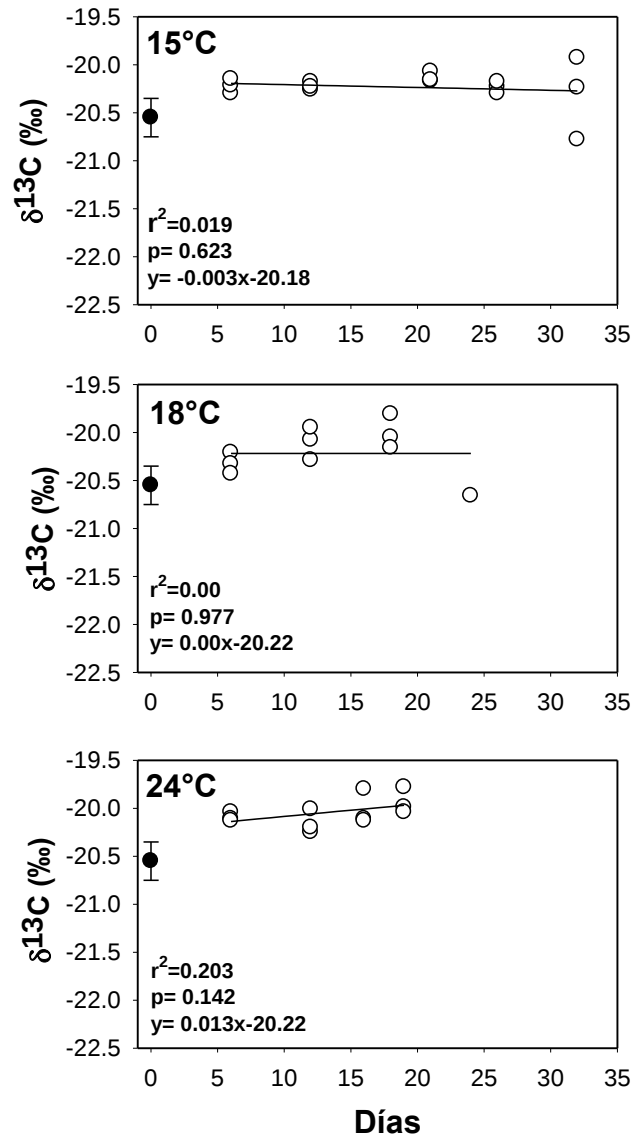


Figura 16. Análisis de regresión de $\delta^{13}\text{C}$ de juveniles de lenguado de California sujetos a un periodo de inanición de 20 días a 1 mes. El punto negro representa la $\delta^{13}\text{C}$ promedio de los juveniles antes del cambio de dieta (-20.5 ± 0.2 ‰ DE).

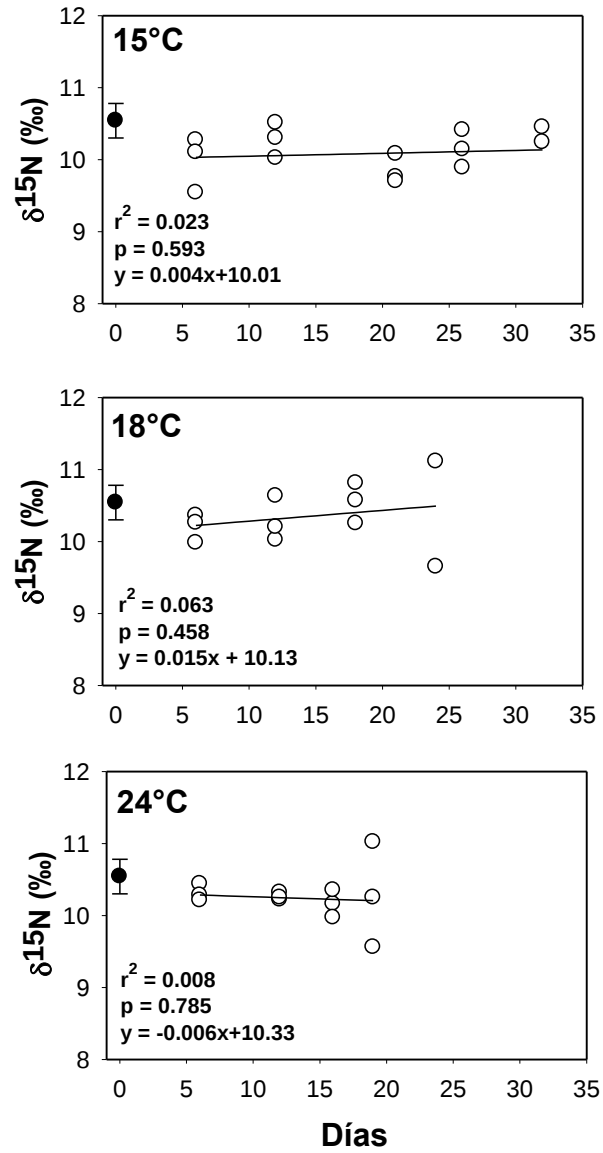


Figura 17. Análisis de regresión de $\delta^{15}\text{N}$ de juveniles de lenguado de California sujetos a un periodo de inanición de 20 días a 1 mes. El punto negro representa la $\delta^{15}\text{N}$ de los juveniles antes del cambio de dieta (10.5 ± 0.2 ‰ DE).

VII. DISCUSIÓN

VII. 1. Caracterización de las redes tróficas

Los sistemas estuarinos son altamente productivos en comparación con los costeros, por lo cual se ha sugerido que estos sistemas funcionan como hábitat de crianza para diversas especies de invertebrados y peces. Las fuentes de producción primaria que conforman la base de sus redes alimentarias pueden incluir plantas vasculares de humedal, macroalgas bentónicas y planctónicas, mantos de pastos marinos, fitoplancton y transporte litoral de materia orgánica (Mann 2000). Dada la complejidad de la producción primaria de estos sistemas, el uso de isótopos estables ha sido de gran utilidad en la caracterización de la estructura de sus cadenas alimentarias (Fry y Sherr 1984, Deegan y Garrit 1997). En este estudio, se caracterizó la estructura de la cadena alimentaria que sustenta a juveniles del lenguado de California en el Estero de Punta Banda y en la Bahía de Todos Santos a través del análisis del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de distintos componentes de las redes tróficas de ambos sistemas.

Las plantas de humedal C-3 y C-4 presentaron un rango de valores en $\delta^{13}\text{C}$ (de -25.1 a -28.2 ‰ y de -13.2 a 15 ‰, respectivamente), consistentes con los reportados en la literatura (Fry y Sherr 1984). Adicionalmente, los valores promedio para $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas de humedal C-4 (*Spartina foliosa* y *Monanthochloe littoralis*), fueron similares a los reportados por Kwak y Zedler (1997) para estas mismas especies (-15.1 y 16.2 ‰) en un sistema de humedales localizado en San Diego, California. Los valores de nitrógeno encontrados en este

estudio para plantas C-4 ($7.7 \pm 1.2 \text{ ‰}$) fueron un poco más bajos que los reportados por Kwak y Zedler (1997) ($10.9 \pm 0.6 \text{ ‰}$).

Las microalgas y el pasto *Zostera marina* no presentaron diferencias espaciales y temporales y el rango de valores encontrados en este estudio fueron consistentes con los reportados en la literatura (Fry y Sherr 1984). Las epífitas asociadas a los pastos presentaron valores de carbono y nitrógeno más positivos (-9.8 ‰ y 8.8 ‰ , respectivamente), que los reportados en otros trabajos donde se reportan valores de -11 a -22 ‰ para carbono y de 3.0 a 7.2 ‰ para nitrógeno (Kitting et al. 1984, Lepoint et al. 2000, Vizzini y Mazzola 2003).

La MOP presentó diferencias significativas entre las dos zonas del estero durante la misma época del año (Tabla III). La MOP de la zona I del estero presentó una composición isotópica muy similar a la de la bahía (Tabla III), mientras que la zona II (parte central al sur del estero) mostró diferencias significativas con las otras zonas durante ambos períodos de muestreo (Tabla III). Estas diferencias se deben probablemente a que la zona I está más cerca de la boca del estero y tiene una mayor influencia de la MOP de la bahía. En contraste, en la zona II el tiempo de residencia del agua es mayor (Álvarez- Borrego y Álvarez- Borrego 1982), y la MOP puede reflejar una composición isotópica más característica de los productores primarios del estero. La composición isotópica de carbono de la MOP fue similar a la de las plantas de humedal C-3, lo cual sugiere que estas plantas

contribuyen substancialmente a la materia orgánica particulada en esta zona del estero.

El caracol *Bulla* y la almeja del género *Escalopa* mostraron diferencias sustanciales en su composición isotópica de carbono entre zonas del estero durante la misma época de muestreo. El caracol *Bulla* es un microherbívoro que se alimenta en el bentos, por lo que las diferencias encontradas probablemente reflejan diferentes fuentes de alimentación entre zonas y/o diferencias en la composición isotópica de microalgas bentónicas. Por otro lado, la almeja mostró valores de carbono de $-17.3 \pm 0.5 \text{ ‰}$ y $-23.1 \pm 0.2 \text{ ‰}$ en la zona I y II, respectivamente, en la primavera, y $-15.4 \pm 0.1 \text{ ‰}$ y $-20.3 \pm 0.1 \text{ ‰}$ en la zona I y II, respectivamente, en el otoño. La composición isotópica de la almeja integra la variabilidad espacial y temporal de su dieta, la materia orgánica particulada la cual tuvo valores de $-17.2 \pm 0.1 \text{ ‰}$ y $-23.7 \pm 0.3 \text{ ‰}$ en la zona I y II, en la primavera y $-15.7 \pm 0.1 \text{ ‰}$ y $-22.8 \pm 0.9 \text{ ‰}$ en la zona I y II, en el otoño. Por lo tanto, los valores isotópicos de las almejas son consistentes con los de la MOP de cada zona del estero.

Los invertebrados y peces (diferentes al lenguado de California) analizados en este estudio presentaron variabilidad en su $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (Tabla III, Fig. 4). Esto refleja diferentes estrategias de alimentación y por lo tanto, su dependencia en distintas fuentes de producción primaria. En el Estero de Punta Banda, la mayoría de los individuos analizados exhibieron composiciones isotópicas relativamente

enriquecidas, tanto en carbono como en nitrógeno. Sus valores excluyen a las plantas C-3 de humedal y la MOP de la zona II como fuentes importantes de producción primaria, y refleja una alimentación en niveles tróficos superiores. En contraste, en la Bahía de Todos Santos, los isópodos, peces, la almeja *Donax* (filtradora), jaiba y otros decápodos exhibieron en su mayoría patrones de composición isotópica consistentes con un patrón de alimentación sustentada en MOP. Sin embargo, los cangrejos ermitaños y el molusco *Crucibulum spinosum* colectados en la bahía tuvieron valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ menos enriquecidos que otros heterótrofos colectados en la misma zona. Esto puede reflejar el consumo de producción primaria originaria del Estero de Punta Banda.

Es difícil identificar las principales fuentes de producción primaria utilizando la composición isotópica de sólo dos elementos. Sin embargo, la MOP de la zona I, las plantas de humedal C-4 (específicamente *Spartina foliosa*), las macroalgas, pastos y epífitas pueden ser las principales fuentes de carbono para juveniles de lenguado de California en el Estero de Punta Banda, mientras que la MOP parecer ser la base de la estructura trófica en la Bahía de Todos Santos.

En general, con base en la composición isotópica de nitrógeno en productores y consumidores, y considerando un fraccionamiento promedio de ca. 3 ‰ por nivel trófico (DeNiro y Epstein 1981), se pudieron establecer de aproximadamente 3 niveles tróficos en el Estero de Punta Banda. Los productores primarios constituyen un primer nivel, los invertebrados un segundo, y los peces un tercero.

En la Bahía de Todos Santos también se pudieron establecer 3 niveles tróficos, con la misma estructura que la del estero.

VII. 2. Uso de isótopos estables como trazador de inmigración estuarina

Una característica indispensable en el uso de los isótopos estables para documentar la inmigración estuarina es que los peces se muevan entre áreas cuyas bases de las cadenas alimentarias sean isotópicamente distintas o en las cuales las presas tengan composiciones diferentes (Herzka y Holt 2000). En el presente trabajo, los juveniles de lenguado de California colectados en el Estero de Punta Banda (hábitat estuarino) y en la Bahía de Todos Santos (hábitat costero) durante el otoño del 2003 exhibieron diferencias en los intervalos de valores de $\delta^{13}\text{C}$ (Fig. 5 y 7). La mayoría de los juveniles colectados en la bahía exhibieron un $\delta^{13}\text{C}$ de aproximadamente -15 ‰. Tan sólo tres individuos tuvieron una composición de carbono enriquecida (uno mostró un valor de -12.4 ‰ y los otros dos de -13.7 ‰). Un valor de -15 ‰ es consistente con el uso de MOP como la base de la cadena alimentaria en la zona costera. En comparación, los peces capturados en las zonas I y II del Estero de Punta Banda tuvieron valores de entre -9.5 y -15.8 ‰ (-13.1 ± 1.2 ‰). El mayor enriquecimiento de muchos de los peces capturados en el estero (Fig. 8) refleja las fuentes de producción primaria identificadas como potencialmente importantes dentro del sistema, como *Spartina foliosa*, macroalgas, epífitas y pastos marinos y es consistente con la composición isotópica de sus fuentes de alimento como misidáceos y gobios. Así mismo, es posible que los tres individuos capturados en la bahía con valores de $\delta^{13}\text{C}$ más

enriquecidos que el -15 ‰ correspondiente a la bahía hayan emigrado del estero o se hayan alimentado parcialmente sobre presas provenientes del estero.

Kwak y Zedler (1997) evaluaron las fuentes de materia orgánica que soportaban consumidores en dos humedales en San Diego, California (uno donde la *Spartina* es abundante y otro donde está ausente). Ellos reportaron como principales fuentes de producción primaria para peces e invertebrados de los humedales del Estuario de Tijuana a las macroalgas, microalgas y *Spartina foliosa*, y sugirieron que esta última provee la materia orgánica a las redes alimentarias de los humedales donde está presente.

Si la composición isotópica de carbono de pre-reclutas capturados en la Bahía de Todos Santos es de aproximadamente -15.0 ‰, los peces con esta composición capturados en el estero serían considerados reclutas recientes que aún no se han alimentado dentro del sistema por suficiente tiempo para reflejar la composición de presas locales (Herzka y Holt 2002). Aquellos individuos con valores de $\delta^{13}\text{C}$ más enriquecidos serían por lo tanto, organismos en transición o equilibrados hacia las fuentes de alimento locales. Esto sugiere que los isótopos de carbono podrían ser utilizados como trazadores naturales de la inmigración estuarina de juveniles del lenguado de California al Estero de Punta Banda.

En contraste con los valores isotópicos de carbono, los valores de nitrógeno de los peces capturados en la Bahía y el Estero exhibieron traslape (12.7 a 15.0 ‰ y

11.6 a 15.6 ‰, respectivamente). En la bahía, los valores isotópicos sugieren que se colectaron dos grupos de peces: unos con valores cerca de 13.0 ‰ y otros entre 14.0 y 15.0 ‰ (Fig. 5). Dado que el $\delta^{15}\text{N}$ de los peces capturados en la bahía no fue función de la talla, es probable que estos dos grupos estuvieran alimentándose de presas con composiciones isotópicas distintas. Sin embargo, el traslape casi completo en el $\delta^{15}\text{N}$ la de los peces capturados dentro y fuera del estero indican que no es posible utilizar la composición isotópica del nitrógeno para evaluar el reclutamiento estuarino de juveniles del lenguado de California.

VII. 3. Recomendaciones para futuros trabajos

Algunas recomendaciones para futuros trabajos podría ser la utilización de un arte de pesca que permita capturar lenguados de tallas más pequeñas ($< 38 \text{ mm L}_E$), lo cual podría asegurar que se capturarán peces que aún no han migrado a sistemas estuarinos. Así mismo, sería útil realizar los arrastres en zonas costeras más alejadas del estero en la Bahía de Todos Santos y durante las cuatro estaciones del año para evaluar cambios espaciales y estacionales en la composición isotópica de los lenguados, algunas fuentes de producción primaria, y sus presas potenciales. También sería apropiado tratar de elegir organismos de la misma especie que se encuentren en distintos hábitats y que sirven como indicadores isotópicos locales, y ser consistentes con el número y tipo de muestras colectadas en cada zona. Por último, el combinar análisis isotópicos con análisis de contenido estomacal podría ayudar a establecer las relaciones tróficas dentro del sistema con un mayor detalle.

VII. 4. Experimento de Laboratorio

La utilización de isótopos estables como trazadores del reclutamiento estuarino requiere de la estimación de las tasas de cambio isotópica en el tejido de los juveniles de peces luego de un cambio de dieta (Hesslein et al. 1993, Herzka y Holt 2000, Murayama et al. 2001, Tominaga et al. 2003). En organismos poiquiloterms, las tasas de cambio isotópico están fuertemente influenciadas por la temperatura. En general, en poiquiloterms como los peces las bajas temperaturas reducen las tasas metabólicas y las tasas de crecimiento, mientras que altas temperaturas las aceleran (Lalli et al. 1997). Los juveniles de lenguado de California, al igual que otras especies de peces que utilizan sistemas estuarinos durante las fases tempranas del ciclo de vida, experimentan drásticos cambios en temperatura bajo condiciones naturales (Allen y Herbinson 1990, Gadomski et al. 1990). Por lo tanto, es importante evaluar el efecto de la temperatura sobre las tasas de recambio isotópico y sobre la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico bajo condiciones representativas del medio natural. La estimación de tasas de recambio isotópico permite modelar el lapso de tiempo disponible (i.e., la ventana de oportunidad) para distinguir organismos que han reclutado recientemente a sistemas estuarinos de aquellos que tienen un mayor tiempo de residencia. A su vez, esto ayuda en la selección de intervalos de muestreo apropiados y apoya la interpretación adecuada de patrones de movimiento inferidos a través del análisis de isótopos estables de los tejidos (Herzka 2005).

VII.4.1. Estimación de la tasa de recambio isotópico

En este estudio, los lenguados sólo presentaron un incremento relativo en biomasa de 3.2, 3.8 y 4.4 a 15, 18 y 24 °C, respectivamente. Algunos estudios han reportado que el equilibrio con una nueva fuente de alimento se alcanza una vez que la biomasa se incrementa 6 veces cuando el efecto del recambio metabólico no es detectable y el recambio isotópico se debe sólo al crecimiento (Herzka y Holt 2000, Bosley et al. 2002, Harvey et al. 2002). Los resultados de este estudio son consistentes que los juveniles de lenguado no llegaron a un equilibrio con la $\delta^{13}\text{C}$ de los misidáceos por no haber subido suficiente de peso durante el experimento.

Las causas de las bajas tasas de crecimiento y recambio isotópico en los juveniles de lenguado criados a 15 °C en comparación con los juveniles criados a 18 y 24 °C probablemente están asociadas al efecto de la temperatura sobre el metabolismo. Sin embargo, los valores de los coeficientes de recambio metabólico a estas temperaturas no fueron significativamente diferentes de -1. No se detectó el efecto del recambio metabólico, lo cual indica que los patrones de cambio isotópico ocurrieron exclusivamente en función de la adición de nueva biomasa. Dado que los peces cultivados a temperaturas más bajas demoraron más tiempo en llegar a una talla similar que a las temperaturas más altas (Fig. 9), es predecible que el tiempo requerido para llegar a un equilibrio isotópico con una nueva fuente de alimento sea más largo a menores temperaturas.

Al igual que en este estudio, la mayoría de los experimentos de laboratorio realizados con peces para evaluar la tasa de recambio isotópico en respuesta a un cambio de dieta se han enfocado a organismos en estadios de rápido crecimiento (larvas y juveniles; ver revisión en Herzka 2005). El crecimiento ha sido considerado como el factor predominante en la tasa de cambio en la composición isotópica de peces jóvenes luego de un cambio de dieta (Hesslein et al. 1993, Herzka y Holt 2000, Herzka et al. 2001, Bosley et al. 2002, Harvey et al. 2002, Tominaga et al. 2003). El recambio metabólico, definido como la degradación y reemplazamiento del tejido corporal existente a través de la síntesis *de novo*, puede acelerar la tasa a la cual es alcanzado el equilibrio después de un cambio de dieta (Fry y Arnold 1982, Herzka y Holt 2000).

Los estudios que han tratado de evaluar la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico a los patrones de cambio isotópico en peces juveniles sometidos a cambios de dieta son relativamente pocos. Mientras que algunos estudios no detectaron el efecto del recambio metabólico (Herzka y Holt 2000, Bosley et al. 2002), otros detectaron su efecto pero lo consideraron mínimo en comparación con la contribución del crecimiento. Por ejemplo, Hesslein et al. (1993) utilizaron isótopos de carbono, nitrógeno y azufre para evaluar la tasa de recambio isotópico en juveniles de *Coregonus nasus*, y atribuyeron el 90 % del recambio isotópico al incremento en biomasa (crecimiento) aunque detectaron un ligero efecto del recambio metabólico. Herzka et al. (2001) cuantificaron la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico de larvas de corvina

dorada (*Sciaenops ocellatus*) a través de un experimento con jaulas en el medio natural. Aunque el crecimiento fue considerado como el factor predominante en el recambio isotópico, ellos sugirieron que este había sido acelerado significativamente por el recambio metabólico. En contraste, Maruyama et al. (2001) evaluaron las tasas de cambio en $\delta^{15}\text{N}$ en poblaciones naturales de gobios (*Rhinogobius sp.*) y estimaron altas tasas de recambio metabólico en tejido muscular. Sin embargo, la interpretación de los resultados de Maruyama et al. (2001) es difícil ya que durante el período de estudio varió la composición isotópica de las presas y las condiciones ambientales fluctuaron.

En el presente trabajo, aunque la tasa de cambio isotópico fue más rápida a 24 °C que a 15 y 18 °C, no se establecieron diferencias significativas entre los coeficientes de recambio metabólico a las tres temperaturas y tampoco se pudo detectar el efecto del recambio metabólico en la tasa de recambio isotópico. Bosley et al. (2002) evaluaron el efecto de la temperatura en las tasas de recambio de carbono y nitrógeno en juveniles de lenguado (*Pseudopleuronectes americanus*) y establecieron diferencias significativas entre temperaturas (13 y 18 °C). Las tasas de recambio isotópico fueron significativamente más rápidas a 18 °C que a 13 °C, sin embargo, no pudieron detectar el efecto del recambio metabólico. Adicionalmente, Herzka y Holt (2000), evaluaron el efecto de la temperatura en la contribución relativa del crecimiento y recambio metabólico a la tasa de cambio en $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en larvas de corvina dorada después de un cambio de dieta bajo condiciones de laboratorio. Aunque se encontró que la tasa de

recambio isotópica fue ligeramente más rápida a 28 que a 24 °C, no logró detectar el efecto del recambio metabólico. Una probable explicación es que como el coeficiente de recambio metabólico (c) mide la pérdida de biomasa existente como consecuencia de procesos de catabolismo, este proceso sea difícil de detectar bajo condiciones de rápido crecimiento y/o tasas altas de reciclaje de los productos del catabolismo (ver Herzka et al. 2001).

Si el recambio metabólico no es detectable, es posible predecir los cambios en la composición isotópica en respuesta a un cambio de dieta usando un modelo de dilución simple, en el cual el único factor que influye en la tasa de recambio isotópico es el crecimiento (Fry y Arnold 1982, Tieszen et al. 1983, Herzka et al. 2002b). En este estudio, se utilizó un modelo de dilución simple y tasas de crecimiento obtenidas del medio natural para juveniles de lenguado de California para predecir los cambios en la composición isotópica a través del tiempo para individuos de distintas tallas. De acuerdo a las estimaciones realizadas (Fig. 14), las tasas de recambio isotópicas variaron substancialmente con respecto a la talla. En un pez de 30 mm L_E , el 95 % de carbono presente antes de un cambio de dieta es reemplazado en un intervalo de 57 días. Esto implica que un individuo de 30 mm L_E se aproximará a un equilibrio con una nueva fuente de alimento luego de aproximadamente 2 meses. En comparación, un pez de 70 mm L_E demorará 140 días para aproximarse al equilibrio (casi 2.5 veces más tiempo).

El tiempo necesario reportado en la literatura para que peces individuales sometidos a un cambio de dieta lleguen a un equilibrio isotópico varía de entre 10 días para larvas de corvina dorada (*Sciaenops ocellatus*, Herzka y Holt 2000 y Herzka et al. 2002) hasta 400 días para bagres juveniles de dos años de edad (*Ictalurus punctatus*, MacAvoy et al. 2001; ver revisión en Herzka 2005). Los resultados obtenidos para los juveniles de lenguado de California están dentro de este rango, y concuerdan con los tiempos estimados para juveniles de otras especies (Herzka 2005).

Con base en el análisis de abundancia y frecuencia de tallas, el lenguado de California migra de zonas costeras a sistemas estuarinos en un rango de tallas de 31 a 70 mm L_E (Kramer 1990). Las estimaciones hechas de las tasas de recambio isotópico sugieren que se cuenta con una ventana de oportunidad de aproximadamente 2.5 a 4.5 meses para poder distinguir entre peces recién emigrados y/o en transición de aquellos que tienen un mayor tiempo de residencia en el sistema y que por lo tanto reflejan fuentes de alimento locales. Sin embargo, es importante considerar que el tiempo necesario para llegar a un equilibrio isotópico estimado en este estudio es sólo una aproximación. Estas estimaciones deben ser tomadas con cautela, ya que se hicieron los supuestos de que las tasas de crecimiento y la ausencia de recambio metabólico son constantes. Sin embargo, las tasas de recambio isotópico no sólo dependen de las tasas de crecimiento y recambio metabólico, si no que también es posible que varíen en función de otros factores importantes como el estadio ontogenético de los peces,

el tipo de presas disponibles, la variabilidad espacial y temporal en la composición isotópica de las presas, y las condiciones ambientales, entre otros (Herzka 2005).

Las tasas de cambio isotópico para carbono y nitrógeno están influenciadas por diferentes procesos. La $\delta^{15}\text{N}$ del nitrógeno inorgánico, por ejemplo, puede variar substancialmente como resultado de procesos biogeoquímicos y antropogénicos (Owens 1987). Por otro lado, no existe un consenso acerca de si las tasas de recambio isotópicas son similares o diferentes para distintos elementos. Por ejemplo, Hesslein et al. (1993) evaluaron las tasas de recambio de carbono, nitrógeno y azufre en el pez *Coregonus nasus* y encontraron que las tasas de recambio en músculo e hígado eran similares. Adicionalmente, Kline y Willette (2002) evaluaron si la dieta era el factor determinante en la supervivencia de juveniles del salmón del Pacífico (*Oncorhynchus spp.*) utilizando isótopos estables de carbono y nitrógeno. Estos autores sugirieron que el carbono era perdido más rápidamente que el nitrógeno luego de un cambio en la alimentación. Lo anterior implica que difícilmente la tasa de recambio establecida para carbono en este trabajo puede ser empleada para el nitrógeno, y que lo más recomendable es evaluarla independientemente.

VII.4.2. Fraccionamiento isotópico

El fraccionamiento exhibido entre la composición isotópica promedio inicial de los peces antes del cambio de dieta con respecto a *Artemia franciscana* fue de 1.6 ‰ para el carbono y 2.1 ‰ para el nitrógeno. Este nivel de fraccionamiento obtenido

para juveniles del lenguado de California es consistente con el reportado para peces por otros autores (Herzka y Holt 2000, Herzka et al. 2001, Bosley et al. 2002, Harvey et al. 2002, Tominaga et al. 2003). Por ejemplo, Pinnegar y Polunin (1999) reportaron un fraccionamiento para el salmónido *Oncorhynchus mykiss* de 1.8 ‰ para carbono y 2.5 ‰ para nitrógeno, Herzka et al. (2000) establecieron un rango de valores de 0.2 a 1.9 ‰ para carbono y de 1.5 a 4.2 ‰ para nitrógeno en larvas de corvina dorada (*Sciaenops ocellatus*), MacAvoy et al. (2001) reportaron un rango de valores de 1.3 a 1.5 ‰ para carbono en el bagre (*Ictalurus punctatus*), y Bosley et al. (2002) reportaron un fraccionamiento para carbono de 2.5 ‰ para carbono y 2.2 ‰ para nitrógeno en juveniles del lenguado (*Pseudopleuronectes americanus*).

VII. 4.3. Experimento de Inanición

El efecto de la inanición sobre la composición isotópica de los tejidos de peces sólo ha sido evaluado por un número limitado de estudios, aunque sí hay artículos sobre animales homeotérmicos. Algunos autores han encontrado que ciertos organismos homeotérmicos presentan un enriquecimiento en N¹⁵ asociado al estrés nutricional (Hobson y Clark 1992). Como la disponibilidad de nitrógeno disminuye, los organismos se ven forzados a depender en gran medida de fuentes de nitrógeno interno. Este proceso favorece la excreción del N¹⁴ de sus reservas internas, provocando el enriquecimiento en N¹⁵ (Hobson y Clark 1992, Adams y Stener 2000).

Los análisis estadísticos de la composición isotópica de los juveniles de lenguado de California sometidos a la inanición indican que en general no se presentaron cambios significativos en $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ a través del tiempo (día 6 en adelante). Sin embargo, hubo un pequeño enriquecimiento entre la $\delta^{13}\text{C}$ inicial y el día 6, así como una ligera depleción en $\delta^{15}\text{N}$ durante la misma etapa. Durante los primeros 6 días, se detectó un enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ de 0.4 ‰ (promedio de los peces criados a las tres temperaturas experimentales). Las razones por las cuales se observa este comportamiento no son claras. Una probable explicación para el enriquecimiento en carbono es la pérdida preferencial de C^{12} durante el proceso de respiración.

Estos resultados son consistentes con los encontrados en otros trabajos similares, en los cuales no se logró establecer un efecto de la inanición sobre la composición isotópica de peces (Herzka y Holt 2000, Tominaga et al. 2003). La hipótesis propuesta por Herzka y Holt (2000) para explicar este fenómeno en larvas de corvina sometida a la inanición por 4 días fue que los procesos catabólicos no actuaron por el tiempo suficiente para producir cambios en la composición isotópica. Sin embargo, en este estudio el período de inanición duró hasta 30 días. Esto sugiere que no hay selectividad a favor o en contra de uno de los isótopos de carbono o nitrógeno durante los procesos catabólicos asociados al mantenimiento del metabolismo durante la inanición, aún a distintas temperaturas.

No obstante el mecanismo por el cual no cambió la composición isotópica de juveniles en respuesta a la inanición, los resultados muestran que no hubo una relación entre el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ y el tiempo de ausencia de alimentación. Esto implica que bajo condiciones naturales no se confundiría a peces que han pasado por largos períodos de inanición con aquellos que hayan sufrido cambios de dieta. Adicionalmente, es poco probable que bajo condiciones naturales un juvenil permanezca por tanto tiempo sin alimentarse, ya que los estuarios son sistemas altamente productivos. Sandoval-Muy (1997), por ejemplo, evaluó los hábitos alimentarios del lenguado de California en la Bahía de Todos Santos y el Estero de Punta Banda de abril de 1992 a febrero del 1993, y reportó sólo un 11.7 % y 18.4 % de estómagos vacíos en verano e invierno, respectivamente, en la bahía y un 13.5 % y 29.9 % en el estero. Por último, los peces sujetos a largos períodos de inanición son más susceptibles a la depredación (Bailey 1994, Mann 2000), por lo cual la probabilidad de que sobrevivan en una población y por ende la probabilidad de capturarlos es menor.

BIBLIOGRAFIA CITADA

Abbott, I. A. y Hollenberg G. J. Marine algae of California, with contributions by six specialists and history of west coast algal study by George F. Papenfuss. Ed. Stanford University Press. 1 ed. Stanford California. 827 pp.

Acosta-Ruíz, M. J. y Álvarez-Borrego, S. 1974. Distribución superficial de algunos parámetros hidrológicos, físicos y químicos, en el Estero de Punta Banda, B. C., en otoño e invierno. Ciencias Marinas 1(1): 17-45.

Adams, T. S. y Stener, R. W. 2000. The effect of dietary nitrogen content on trophic level ^{15}N enrichment. Limnol Oceanogr. 43(3): 601-607.

Aguilar-Rosas, R. 1980. Algas bentónicas y fanerógamas del Estero de Punta Banda, Baja California, México, durante verano y otoño. Tesis profesional. Escuela Superior de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California, México. 43 pp.

Aguilar-Rosas, R. 1982. Identificación y distribución de las algas marinas del Estero de Punta Banda, Baja California, México. Ciencias Marinas 8 (1): 78-87.

Alcántara, B. M. C. 1992. Química de hoy. Ed. Mc Graw Hill. 1 ed. Edo de México. 397 pp.

Álvarez-Borrego, J. y Álvarez-Borrego, S. 1982. Temporal and spatial variability of temperature in two coastal lagoons. CalCOFI Rep. 188-197.

Álvarez-Borrego, S., Granados, G. A. y Beltrán-Félix, J. L. 1984. Temperatura y salinidad en el Estero de Punta Banda: 1982-1983. Ciencias Marinas 10(3): 105-108.

Allen, L. G. 1988. Recruitment, distribution, and feeding habits of young-of-the-year California halibut (*Paralichthys californicus*) in the Vicinity of Alamitos Bay-Long Beach Harbor, California, 1983-1985. Bull Southern California Acad. Sci. 87(1):19-30.

Bailey, K. M. 1994. Predation on juvenile flatfish and recruitment variability. Netherlands Journal of Sea Research 32 (2): 175-189.

Basky, K. C. 1990. History of the commercial California halibut fishery. Fish Bull 175: 217-277.

Beltrán-Félix, J. L. 1984. Distribución, abundancia y diversidad de peces adultos en el Estero de Punta Banda, Ensenada, Baja California. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE). 90 pp.

Beltrán-Félix, J. L. 1986. Ictiofauna del Estero de Punta Banda, Ensenada Baja California, México, antes de la operación de dragado. *Ciencias Marinas* 12(1): 79-92.

Boehlert, G. W. y Mundy, B. C. 1988. Roles of behavior and physical factors in larval and juvenil fish recruitment to estuarine nursery areas. *Am. Fish Soc. Symp.* 3: 51-67.

Boon, P. I. y Bunn, S. E. 1994. Variations in the stable isotope composition of aquatic plants and their implications for food web analysis. *Aquatic Botany* 48: 99-108.

Bosley, K. L. y Wainright S. C. 1999. Effects of preservatives and acidification on the stable isotope ratios (^{15}N : ^{14}N , ^{13}C : ^{12}C) of two species of marine animals. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 56: 2181-2185.

Bosley, K. L., Witting, D. A., Chambers, R. C., y Wainright, S. C. 2002. Estimating rates turnover of carbon and nitrogen in recently metamorphosed winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* with stable isotope. *Marine Ecology Progress Series* 236: 233-240.

Brusca, R. C. 1980. Common intertidal invertebrates of the Gulf of California. Ed. University of Arizona Press. 2 ed. Tucson Arizona. 513 pp.

Buenfil-López. L. A. 1990. Aspectos Biológicos del Lenguado de California (*Paralichthys californicus*) (AYRES) en la laguna costera Estero Punta Banda, Ensenada Baja California. Tesis de Licenciatura de la Facultad de Ciencias Marinas de Ensenada Baja California pp.1-45.

Castillo-Álvarez, J. A. 1990. Sinopsis de algas verdes (clorophyta) de la península de Baja California México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. 198 pp.

Castro-Longoria, R. y Grijalva-Chon, J. M. 1988. Ictioplancton del Estero Punta Banda, BC, México, durante primavera verano de 1985. Ciencias Marinas 14(1): 57-79.

Chambers, J. R. 1992. Coastal degradation and fish population losses. Marine recreational fisheries 14. Stemming the tide of coastal fish habitat loss. National coalition for marine Conservation. 45-51.

Deegan, L. A. y Garrit, R. H. 1997. Evidence for spatial variability in estuarine food webs. Marine Ecology Progress Series 147: 31-47.

DeNiro, M. J. y Epstein, S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochimica et Cosmochimica Acta 42: 495-506.

DeNiro, M. J. y Epstein, S. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 46: 541-351.

Feber, P. M. 1982. Common wetland plants of coastal California. Ed. Pickleweed Press. 1ra. ed. 111 pp.

Flores, U. O. 1996. Anfípodos epífaunales de la localidad El Chute, San Quintín, B. C. Biología y diversidad. Contribución al proyecto “estructura y funcionamiento de una pradera de *zostera marina*, por medio de índices y modelos matemáticos. CICESE. 32 pp.

France, R. L. 1995. Carbon 13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. *Marine Ecology Progress Series* 124: 307-312.

Frey, H. W. 1971. California's living marine resources and their utilization. Department of fish and game 61-69.

Fry, B. y Parker, P. L. 1979. Animal diet in Texas seagrass meadows: $\delta^{13}\text{C}$ evidence for the importance of benthic plants. *Estuarine and Coastal Marine Science* 8: 499-509.

Fry, B. 1983. Fish and shrimp migrations in the northern Gulf of Mexico analyzed using stable C, N, and S isotope ratios. *Fishery Bulletin* 81: 789-801.

Fry, B. y Arnold, C. 1982. Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). *Oecologia (Berl)* 54: 200-204.

Fry, B. 1984. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios and the trophic importance of algae in Florida *Syringodium filiforme* seagrass meadows 79: 11-19.

Fry, B. 1999. Using stable isotopes to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 56: 2167-2171.

Gadomski, D. M., Caddell, S. M., Abbott, R. L., y Caro, T. C. 1990. Growth and development of larval and juvenile California Halibut, *Paralichthys californicus*, reared in the laboratory. *Fish Bulletin* 174:85-98.

Gadomski, D. M. y Candell, S. M. 1991. Effects of temperatura on early-life-history stages of California Halibut *Paralichthys californicus*. *Fishery Bulletin* 89: 567-576.

Gibson, R. N. 1994. Impact of habitat quality and quantity on the recruitment of juvenile flatfishes. *Netherlands Journal of Sea Research* 32 (2): 191-206.

Gisbert, E., Merino, G., Muguet, J. B., Bush, D., Piedrahita, R. H. y Conklin, D. E. 2002. Morphological development and allometric growth patterns in hatchery reared California Halibut larvae. *Journal of Fish Biology* 61: 1217-1229.

Haaker, P. L. 1975. The Biology of the California Halibut, *Paralichthys californicus* (AYRES) in Anaheim bay. Fish Bulletin 174:137-154.

Hammann, G. y Rosales-Casián, J. A. 1990. Taxonomía y estructura de la comunidad de peces del estero de Punta Banda y Bahía Todos Santos, Baja California México. Temas de Oceanografía Biológica en México. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE) 153-192.

Hammann, G. y Ramírez-González, M. G. 1990. California halibut, *Paralichthys californicus* in Todos Santos Bay, Baja California, México. Fish Bulletin 174:127-144.

Harvey, C. J., Hanson, P. C., Essington, T. E., Brown, P. B. y Kitchell, J. F. 2002. Using bioenergetics models to predict stable isotope ratios in fishes. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 59: 115-124.

Herzka, S. Z. y Holt, G. J. 2000. Changes in isotopic composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae in response to dietary shifts: potential applications to settlement studies. Can. J Fish Aquat. Sci. 57: 137-147.

Herzka, S. Z., Holt, S. A., y Holt, G. J. 2001. Documenting the settlement history of individual fish larvae using stable isotope ratios: model development and validation. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 265: 49-74.

Herzka, S. Z., Holt, S. A., y Holt, G. J. 2002. Characterization of settlement patterns of red drum *Sciaenops ocellatus* larvae to estuarine nursery habitat: a stable isotope approach. Marine Ecology Progress Series 226: 143-156.

Herzka, S. Z. 2005. Shifts in food-web dependencies in sub-tropical estuarine fishes as tracers of habitat changes. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 64: 53-69.

Hesslein, R. H., Capel, M. J., Fox, D. E. y Hallard, K. A. 1991. Stable isotopes of sulphur, carbon, and nitrogen as indicators of trophic level and fish migration in the lower Mackenzie River Basin, Canada. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 48: 2258-2265.

Hesslein, R. H., Hallard, K. A., y Ramlal, P. 1993. Remplacement of sulphur, carbon, and nitrogen in tissue of growing Broad Whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by $\delta^{34}\text{S}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50: 2071-2076.

Hjort, J. 1914. Fluctuations in the great fisheries of northern Europe. Rapports et Proces – Verbaux des Réunions Conseil International Pour L' Exploration de la Mer 20: 1-228.

Hobbie, J. E. 2000. Estuarine Science. A synthetic approach to research and practice. Ed. Island Press. 1 ed. Washington, D. C. 539 pp.

Hobson, K. A. y Clark, R. G. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. *The Condor* 94: 189-197.

Hobson, K. A. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Condor* 101: 181-188.

Houde, E. D. 1987. Fish early life dynamics and recruitment variability. *J. American Fisheries Society Symposium* 2: 17-29.

Houde, E. D. 1989. Subtleties and episodes in the early life of fishes. *J. Fish Biol.* 35 (supplement A): 29-38.

Ibarra-Obando, S. E. y Escofet, A. M. 1987. Industrial development effects on the ecology of Pacific Mexican estuary. *Environmental Conservation* 14(2): 135-141.

Ibarra-Obando, S. E. 1990. Lagunas costeras de Ensenada. *Ciencia y Desarrollo* XVI 92: 39-49.

Instituto Nacional de Pesca (1999) Anuario Estadístico de Pesca, Subsecretaría de Pesca, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y alimentación. <http://regpesc.semarnap.gob.mx:8891/>

Jardine, T. D., MacLatchy, D. L., Fairchild, W. L., Cunjack, R. A., y Brown, S. B. 2004. Rapid carbon turnover during growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in sea water, and evidence for reduced food consumption by growth-stunts. *Hydrobiologia* 527: 63-65.

Jennings, S., Reñones, O., Morales-Nin, B., Polunin, V. C., Moranta, J., y Coll, J. 1997. Spatial variation in the ^{15}N and ^{13}C stable isotope composition of plants, invertebrates and fishes on Mediterranean reefs: implications for the study of trophic pathways. *Marine Ecology Progress Series* 146: 109-116.

Jensen, G. C. 1995. Pacific Coast crabs and Shrimps. Ed. Sea Challengers. 2da. ed. Monterey California. 128pp.

Kachigan, S. K. 1986. Statistical analysis an interdisciplinary introduction to univariate & multivariate methods. Ed. Radius Press. 1ra. ed. New York. 589 pp.

Kitting, C. L., Fry, B., y Morgan, M. D. 1984. Detection of inconspicuous epiphytic algae supporting food webs in seagrass meadows. *Oecologia* 62: 145-149.

Kline, T. C. y Willette, T. M. 2002. Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.) early marine feeding patterns based on $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in Prince William Sound, Alaska. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 59: 1626-1638.

Kramer, S. H. 1990. Habitat specificity and ontogenetic movements of juvenile California Halibut, *Paralichthys californicus*, and other flatfishes in shallow waters of southern California. Tesis de Doctorado. University of California, San Diego. 70pp.

Kramer, S. H. 1991a. The shallow-water flatfishes of San Diego county. CalCOFI Rep. 32: 128- 142.

Kramer, S. H. 1991b. Growth, mortality, and movements of juvenile California Halibut *Paralichthys californicus* in shallow coastal and bay habitats of San Diego country, California. Fishery Bulletin 89:195-207.

Kwak, T. J. y Zedler, J. B. 1997. Food web analysis of southern California coastal wetlands using multiple stable isotopes. Oecologia 110:262-277.

Lalli, C. M. y Parsons, T. M. 2000. Biological oceanography an introduction. 2 ed. Ed. Butterworth Heinemann. Vancouver, Canada. 314 pp.

Lepoint, G., Nyssen, F., Gobert, S., Dauby, P., y Bouquegneau, J. M. 2000. Relative impact of a seagrass bed and its adjacent epilithic algal community in consumer diets 136: 513-518.

MacAvoy, S. E., Macko, S. A., y Garman, G. C. 2001. Isotopic turnover in aquatic predators: quantifying the exploitation of migratory prey. Can J. Fish. Aquat. Sci. 58: 923-932.

Macko, S. A., Estep, M. L. F., Engel, M. H., y Hare, P. E. 1986. Kinetic fractionation of stable nitrogen isotopes during amino acid transamination. Geochimica et Cosmochimica Acta 50: 2143-2146.

Macko, S. A., Estep, L. F., Hare, P. E., y Hoering, T. C. 1987. Isotopic fractionation of nitrogen and carbon in the synthesis of amino acids by microorganisms. Chemical Geology (Isotope Geoscience Section) 65: 79-92.

Mann, K. H. 2000. Ecology of coastal waters with implications for management. Ed. Blackwell Science. 2 ed. 406 pp.

Maruyama, A., Yoshihiro, Y., Rusuwa, B., y Yuma, M. 2001. Change in stable nitrogen isotope ration in the muscle tissue of a migratory goby, *Rhinogobius* sp., in natural setting. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58: 2125-2128.

McLean, J. H. 1978. Marine shells of southern California. Natural history museum of the Angeles country . Science series 24, revised edition march 20 1978. 104 pp.

Mille, P. S. R., Parra, A. M. J., y Pérez, C. A. 1993. Guía para la identificación de invertebrados. Ed. Trillas.1ra. ed. México, D. F. 465 pp.

Miller, D.J. y Lea, R. N. 1976. Guide to the coastal marine fishes of California. Ed. California Sea Grant. Fish Bulletin 157. Sacramento California. 249pp.

Moser, H.G. y Watson, W. 1990. Distribution and abundance of early life history stages of the California halibut, *Paralichthys californicus*, and comparison with the fantail sole, *Xystreurys liolepis*. Fish Bulletin 174: 31-71.

Oda, D. 1991. Development of eggs and larvae of California halibut *Paralichthys californicus* and Fantail sole *Xystreurys liolepis* (Pisces: Paralichthyidae). Fishery Bulletin 89: 387-402.

Owens, N. J. P. 1987. Natural variations in ^{15}N in marine environment. Advances in Marine Biology 24: 389-451.

Pagano, M. y Gauvreau, K. 2001. Fundamentos de bioestadística. Ed. Thomson learning. 2da ed. 525pp.

Pinnegar, J. K. y Polinin, N. V. C. 1999. Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: implications for study of trophic interactions. *Functional Ecology* 13: 225-231.

Plummer, K. M., Demartini, E. E., y Roberts, D. A. 1983. The feeding habits and distribution of juvenile-saml adult California halibut (*Paralichthys californicus*) in coastal waters off northern San Diego county. *CalCOFI Rep.* (XXIV): 194-201.

Pritchard, D. W., De la Paz-Vela, R., Muro, H. C., Sanz, S. F., y Morales, E. 1978. Hidrografia física del Estero de Punta Banda parte I: análisis de datos. *Ciencias Marinas*. 5(2): 1-23.

Ramírez-Rodríguez M. 1996. Pesquerías de escama En: Estudio potencial pesquero u acuícola de Baja California Sur. M Casas Valdez y G. Ponce Díaz, Editores. 287-304.

Rosales-Casián J. A. 1997a. Estructura de la comunidad de peces y el uso de los ambientes de bahías, lagunas y costa abierta en el Pacífico Norte de Baja California. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). 201 pp.

Rosales-Casián, J. A. 1997b. Inshore soft-bottom fishes of two coastal lagoons on the Northern Pacific coastal of Baja California. *CalCOFI Rep.* 38: 180-190.

Sandoval-Muy, M. I. 1995. Hábitos alimenticios y aportación nutricional de la dieta de *Paralichthys californicus* en la Bahía de Todos Santos y el Estero de Punta Banda, Ensenada, B. C. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE). 62 pp.

Schoeller, D. A. 1999. Isotope Fractionation: Why aren't we what we eat ? Journal of Archaeological Science 26: 667-673.

Secretaría de Marina. 1974. Estudio geográfico de la región de Ensenada, B. C. Dirección Central de Oceanografía y Señalamiento Marítimo. 462 pp.

Sherman, A. Sherman, S.J., y Russikoff, L. 2001. Conceptos Básicos de Química. Ed. Continental. 1 ed. 503 pp.

Sydney, S. A. J. y Castellan, N. J. 1995. Estadística no paramétrica aplicada a la ciencia de la conducta. Ed. Trillas. 4ta ed. 437 pp.

Simenstad, C. A. y Wissmar, R. C. 1985. $\delta^{13}\text{C}$ evidence of the origins and fates of organic carbon in estuarine and nearshore food webs. Marine Ecology Progress Series 22: 141-152.

Teeri, J. A. y Schoeller, D. A. 1979. $\delta^{13}\text{C}$ values of an herbivore and the ration of C-3 to C-4 plant carbon in its diet. Oecologia 39: 197-200.

Tominaga, O., Uno, N., y Seikai, T. 2003. Influence of diet shift from formulated feed to live mysids on the carbon and nitrogen stable isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) in dorsal muscles of juveniles Japanese flounders, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 218: 265-276.

Tieszen, L. L., Boutton, T.W., Tesdahl, K. G., y Slade, N. A. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: Implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. Oecologia (Berlin) 57: 32-37.

Vander, M. N. J. 1982. Carbon isotopes, photosynthesis an Archaeology. American Scientist 70: 596-606.

Van Der Veer, H. W., Berghhn, R., y Rijnsdorp., A. 1994. Impact of juvenile growth on recruitment in flatfish. Netherlands Journal of Sea Research 32 (2): 153-173.

Vander, Z. M. J., Hulshof, M., Ridgway, M. S., y Rasmussen, J. B. 1988. Application of stable isotope techniques to trophic studies of age-0 smallmouth bass. Transactions of the American Fisheries Society 127: 729-739.

Varanasi, U. 1992. Chemical contaminants and their effects on living marine resources. Marine recreational fisheries 14. Stemming the tide of coastal fish habitat loss. National coalition for marine Conservation. 59-70.

Vizzini, S. y Mazzola, A. 2003. Seasonal variations in the stable carbon and nitrogen isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) of primary producers and consumers in a western Mediterranean coastal lagoon. *Marine Biology* 142: 1009-1018.

Weinstein, M. P., Litvin, S. Y., Bosley, K. L., Fuller, C. M., y Wainright, S. C. 1980. Retention of three taxa of postlarval fishes in an intensively flushed tidal estuary, Cape Fear River, North Carolina. *Fishery Bulletin* 78: 419-435.

Wiggins, I. L. 1980. *Flora of Baja California*. Ed. Stanford University Press. 1ra. ed. Stanford California. 1025 pp.

Zieman, J. C., Macko, S. A., y Mills, A. I. 1984. Role of seagrasses and mangroves in estuarine food webs: temporal and spatial changes in stable isotope composition and amino acid content during decomposition. *Bulletin of Marine Science* 35 (3): 380-392.