

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Doctorado en Ciencias
en Ciencias de la Vida
con orientación en Biología Ambiental**

**Elementos químicos y su relación con isótopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y
 $\delta^{15}\text{N}$), utilizando a la foca común (*Phoca vitulina richardii*)
como bioindicador en Baja California, México**

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Doctor en Ciencias

Presenta:

Maricela Juárez Rodríguez

Ensenada, Baja California, México
2020

Tesis defendida por

Maricela Juárez Rodríguez

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Gisela Heckel Dziendzielewski
Directora de tesis

Miembros del comité

Dr. Fernando Ricardo Elorriaga Verplancken

Dra. Lía Celina Méndez Rodríguez

Dr. Rodrigo Méndez Alonzo

Dra. Yolanda Schramm Urrutia



Dra. Patricia Juárez Camacho
Coordinadora del Posgrado en Ciencias de la Vida

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de Estudios de Posgrado

Maricela Juárez Rodríguez © 2020

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y directora de la tesis.

Resumen de la tesis que presenta **Maricela Juárez Rodríguez** como requisito parcial para la obtención del grado de Doctor en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Biología Ambiental.

Elementos químicos y su relación con isótopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$), utilizando a la foca común (*Phoca vitulina richardii*) como bioindicador en Baja California, México.

Resumen aprobado por:

Dra. Gisela Heckel Dziendzielewski
Directora de tesis

La liberación de elementos químicos al ambiente ha incrementado a escala global en últimas décadas, cuyas fuentes pueden ser antropogénicas o naturales. Estos elementos, al llegar al mar, alteran las concentraciones en el medio, dejando expuestos a organismos que pueden bioacumularlos y biomagnificarlos, posiblemente alcanzando niveles tóxicos. El presente trabajo se centró en la foca de puerto del Pacífico (*Phoca vitulina richardii*), al considerarla una especie bioindicadora debido a que ocupa un alto nivel trófico, es filopátrica, no migratoria, y longeva (20-35 años); por tanto permite documentar procesos biogeoquímicos y evidenciar sitios contaminados en su hábitat. Para conocer estos aspectos en el hábitat de la foca en México colecté pelo de crías en cinco sitios ubicados a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California representativos de su distribución en México: Isla Todos Santos, Estero de Punta Banda, así como las islas San Jerónimo, Natividad y San Roque, en temporada de cría (febrero a abril) de 2015. Posteriormente, analicé sus concentraciones de Ag, As, B, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Pb, Sb, Se, V y Zn así como de sus composiciones isotópicas de C y N. Encontré diferencias tanto en las concentraciones de elementos químicos como en los valores de sus composiciones isotópicas en ambos elementos entre colonias, reflejo de la variación en dieta, procesos biogeoquímicos y aportes antropogénicos locales por sitio. Los resultados del análisis isotópico indicaron que las crías son un buen indicador de hábitos alimentarios de las madres, los valores $\delta^{15}\text{N}$ revelaron el enriquecimiento en ^{15}N de norte a sur de la línea base de la red trófica de esta región y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y Cd indicaron que las hembras adultas prefieren alimentarse en áreas béntico-demersales, con ligeras variaciones entre colonias debido al consumo de presas diferentes, además de ser indicativos de eventos de surgencia. Los elementos As, Co, Cu, Se, Pb y V resultaron ser los mejores trazadores para evidenciar sitios contaminados. Mis resultados demuestran que el uso de herramientas indirectas es útil para afrontar el reto de estudiar la ecología de especies marinas en vida libre, pues permite conocer los hábitos alimentarios, determinar relaciones tróficas, entender los procesos biogeoquímicos e identificar las amenazas a la salud de los organismos marinos.

Palabras clave: isótopos estables, elementos químicos, foca común del Pacífico, *Phoca vitulina richardii*.

Abstract of the thesis presented **by Maricela Juárez Rodríguez** as a partial requirement to obtain the Doctor of Science degree in Life Sciences with orientation in **Environmental Biology**.

Chemical elements and its relationship with stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$), using the Harbor seal (*Phoca vitulina richardii*) as bioindicator in Baja California, México.

Abstract approved by:

Gisela Heckel Dziendzielewski, PhD.
Thesis director

The releasing of chemical elements into the environment has increased globally in recent decades, resulting from both anthropogenic activities, and natural sources. When these elements reach the ocean, they can modify their natural concentrations, posteriorly being expounded to the organisms, which tend to bioaccumulate and biomagnify them, even reaching toxic levels. The present work focused on the Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*), because it occupies a high trophic level, is a philopatric species, is a non-migratory species, and is long-lived (20-35 years); therefore it allows to document biogeochemical processes and reveal polluted sites in its habitat. To know these aspects in the harbor seal habitat in Mexico, I collected pup's fur from five sites located along of the west coast of the Baja California Peninsula representative of its distribution in Mexico: Punta Banda Estuary and Todos Santos, San Jerónimo, Natividad and San Roque islands, during breeding season (from February to April) of 2015. Then, I analyzed the concentrations of Ag, As, B, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Pb, Sb, Se, V and Zn, as well as the isotopic composition of C and N ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$). I found differences both in the concentrations of chemical elements and in the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values among colonies, this is a reflection of the variation in diet, biogeochemical processes and local anthropogenic contributions inherent per site. The results of the isotopic analysis highlight that the pups' fur is a good indicator of their mothers' feeding habits, the $\delta^{15}\text{N}$ values revealed the enrichment in ^{15}N from north to south of the foodweb baseline in this región, and the $\delta^{13}\text{C}$ values and Cd concentrations indicated that adult females prefer to feed in benthic-demersal areas, with slight variations among colonies due to the consumption of different prey species; in addition, they indicated upwelling events. The As, Co, Cu, Se, Pb and V elements were the best indicators to reveal polluted sites. My results demonstrate that the use of indirect tool is useful to face the challenge of studying wildlife marine species, thus allow us to learn about their feeding habits, determine their trophic relationships, understand the biogeochemical processes and identify threats to the health of marine organisms.

Keywords: Stable isotopes, chemical elements, Pacific harbor seal, *Phoca vitulina richardii*.

Dedicatoria

A lo más sagrado en mi vida :

¡Mi familia!

Esta investigación se la dedico con todo mi amor y mi eterno agradecimiento a quienes son mi principal apoyo:

Mis papás.

A mi hermano y Jessy por darme mi más grande motivación:

Mía.

A mi mejor compañía y alegría a lo largo de estos años:

Frída.



"When I look into the eyes of an animal, I do not see an animal, I see a living being, I see a friend, I feel a soul"

A. Douglas

Agradecimientos

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgarme una beca (No. 26244) para realizar mis estudios de doctorado.

Posgrado de Ciencias de la Vida de CICESE, por aceptarme en su prestigiado departamento de Biología de la Conservación.

Dirección General de Vida Silvestre, por el permiso de colecta de muestras otorgado (Oficio Núm. SGPA/DGVS/12269/13).

Dra. Gisela Heckel por aceptarme en su equipo de trabajo, dirigir esta investigación, brindarme más allá del apoyo necesario para desarrollar mi doctorado y por jamás rendirse. Gracias por toda esa enorme paciencia que me tuviste.

Dra. Yolanda Schramm por sus novedosas ideas en mi investigación, por liderar, organizar y financiar las salidas a los sitios de estudio, equipo de campo y laboratorio través del proyecto CONACyT/179451 “Estructura genética, hábitos alimentarios, abundancia y ciclo anual de la de puerto (*Phoca vitulina richardii*)”. Yoli gracias por los consejos no sólo profesionales que me alentaron a seguir y no desistir.

Dr. Juan Carlos Herguera por analizar las muestras de en el laboratorio de Isótopos Estables en CICESE y por su revisión en el primer manuscrito de esta investigación. Gracias por ser la luz en mi camino, por todas las enseñanzas, tiempo y esfuerzo dedicados a que realmente entendiera los procesos biogeoquímicos. De manera personal, gracias por compartirme en una caminata su secreto de vida: “Jamás dejes que te roben esto, porque pendientes siempre van a existir”...referente al tiempo que uno se dedica a despejar la mente y cuidar la salud.

M. en C. Axel Rosas por tu ayuda en el laboratorio de Isótopos Estables en CICESE. Axel tu amabilidad marca la diferencia en el trabajo.

Dra. Lía Celina Méndez por su apoyo en el análisis de metales en el laboratorio de Espectrometría de Absorción Atómica de CIBNOR. En especial, por creer en mi proyecto, usted fue parte fundamental para que siguiera avanzando en mi investigación, sin su ayuda esto no hubiera sido una tesis de doctorado. Gracias por su amabilidad, trato y confianza.

Ing. Baudilio Acosta Vargas por su guía y asesoría en el laboratorio de Espectrometría de Absorción Atómica de CIBNOR. Gracias por hacer mi estancia sumamente efectiva y agradable.

Dr. Fernando Elorriaga por tu guía y apoyo a lo largo de no sólo este proyecto, eres mi maestro a seguir, gracias por tus consejos para mejorar tanto la tesis como el artículo de ecología trófica. Mil gracias por tu presencia, participación en cada reunión de avance, tu experiencia fue muy valiosa, así como tu amistad y ánimos.

Dra. Sharon Herzka por su tiempo invertido en el manuscrito de isótopos estables.

Dr. Rodrigo Méndez por el tiempo y consejos para mejorar esta investigación, por el punto de vista diferente y entusiasmo. Dra. Coral por siempre motivarme y encontrar las palabras exactas para seguir.

Dra. Lucila Lares por permitir el lavado de las muestras en el laboratorio de Radioisótopos y elementos traza en CICESE.

A mis profesores de posgrado: Dra. Elenita (no sé que haríamos sin usted, gracias por siempre apoyarnos con una enorme sonrisa), Dr. Oscar Sosa (por su amabilidad y tiempo en aclararme tanta duda), M.C. Vicente Ferreira (por sus asesorías y buen humor que hicieron cada enseñanza un momento memorable) y Dr. Helenes y maestra Martita (por su apoyo, ánimos, comidas en casa a la que llegué a considerar hogar).

Al personal del posgrado de la UDB: Eva (mil gracias por tus “buenos días” que a veces me cambiaban el día y por siempre estar atenta a mis avances), Adriana Mejía (gracias por facilitar tanto los trámites y siempre recibirme con una sonrisa, Linda Lomelí (gracias por tu afabilidad y buena energía). En especial a la Dra. Patricia Juárez por todo su apoyo, ánimos y seguimiento a mi caso.

Al personal del CICESE: Elizabeth (por tu rápida y efectiva revisión de tesis), Blanquita (por tu amabilidad en todos los tramites bibliotecarios), Citlali (por ser siempre muy amable en los trámites de inscripción), Dolores (gracias por facilitar todos los trámites), y Yahaira (por cada una de las sesiones dentro y fuera de CICESE, gracias por preocuparte genuinamente en mi).

Compañeros y amigos del “equipo focas” que me ayudaron en las salidas de campo: Eva, Aleks, Claudia, Paulette, Lupita y Eli... gracias por sus destrezas, habilidad, ánimo, y sobre todo su amistad. Denise, gracias por una buena compañera en este proceso, por los miedos, desesperaciones, frustraciones pero también por las victorias logradas.

Mis amigos por todo el cariño, ánimo, motivación y tiempo: Dani Bárcenas (neni gracias por siempre escucharme), Nuria Torrejón, Lupita Ruiz, Mel de Jesús, Moni Rodríguez, Jess Villegas, Cas Gálvez, Mariana Chávez, Anely Fernández, Esme Bravo, Leo de la Rosa, Dian Rodea, Kari Bueno, Delfo Jácome y Marce Bravo. Sand Mote gracias por tu apoyo en los momentos más difíciles, por ser mi couch, por llorar y alegrarnos juntas, en fin por tanto y tanto aguante, te quiero como a una hermana.

Jules gracias por confiar en mi a nivel profesional, por las alegrías y tensiones de publicar juntos (crecimos un poquito más), por enseñarme isla Guadalupe, pero sobretodo por tu apoyo en esta última fase de mi doctorado.

A la mar, por dejarme atrapar en su encanto y darme la fuerza para vivir.

Las focas, voluntarias o no, que hicieron posible este trabajo, sin duda fueron, son y seguirán siendo mi fuente de inspiración, amor, pasión y ganas para seguir investigándolas y conservándolas.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	i
Resumen en inglés.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	x
Capítulo 1. Introducción general.....	1
1.1 Antecedentes	3
1.1.1 Generalidades de la foca de puerto del Pacífico.....	3
1.1.2 Alimentación.....	5
1.1.3 Uso del pelo como bioindicador.....	7
1.2 Justificación.....	9
1.3 Hipótesis general.....	10
1.4 Objetivos.....	11
1.4.1 Objetivo general.....	11
1.4.1 Objetivos específicos.....	11
1.5 Metodología.....	11
1.5.1 Área de estudio.....	11
1.5.2 Trabajo de campo.....	14
1.5.3 Trabajo de laboratorio: preparación de muestras.....	14
Capítulo 2. Ecología trófica de la foca de puerto del Pacífico una aproximación con base en colonias mexicanas a través del análisis del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$	16
2.1 Introducción.....	16
2.2 Hipótesis	20
2.3 Objetivos.....	21
2.3.1 Objetivo general.....	21
2.3.2 Objetivos específicos.....	21
2.5 Metodología.....	22
2.5.1 Procesamiento de las muestras.....	22
2.5.2 Análisis de laboratorio de las muestras.....	22

2.5.3 Análisis estadístico.....	23
2.5.3.1 Variación inter-individual.....	23
2.5.3.2 Nicho trófico.....	24
2.5.3.3 Variación geográfica.....	26
2.5.3.4 Relación con la dieta.....	26
2.6 Resultados.....	27
2.6.1 Variación inter-individual.....	27
2.6.2 Nicho trófico.....	29
2.6.3 Variación geográfica.....	32
2.6.4 Relación con la dieta.....	32
2.7 Discusión.....	35
2.7.1 Comparación isotópica entre pinnípedos.....	37
2.7.2 Relación con la dieta.....	40
2.7.3 Limitaciones.....	40
2.8 Conclusiones.....	42
Capítulo 3. Elementos químicos en <i>P.v. richardii</i> como bioindicador de procesos biogeoquímicos y de contaminación en México.....	43
3.1 Introducción.....	43
3.2 Antecedentes.....	45
3.2.1 Clasificación de los elementos químicos.....	42
3.2.2 Definición de los elementos químicos estudiados.....	46
3.2.3 Factores que afectan las concentraciones de elementos químicos en mamíferos marinos.....	58
3.2.4 Estudios de elementos químicos en el pelo de <i>Phoca vitulina</i>	60
3.2.5 Transferencia de elementos químicos madre-cría.....	62
3.3 Hipótesis.....	63
3.4 Objetivos	63
3.4.1 Objetivo general.....	63
3.4.2. Objetivos específicos.....	64
3.5 Metodología.....	64
3.5.1 Área de estudio y su relación con los elementos químicos.....	64
3.5.2 Procesamiento de las muestras	65

3.5.2.1 Colecta de las muestras.....	65
3.5.2.2 Lavado de las muestras.....	65
3.5.2.3 Procesamiento en laboratorio.....	66
3.5.3 Análisis estadístico.....	68
3.5.4 Evaluación del grado de toxicidad	68
3.6 Resultados.....	69
3.6.1 Variabilidad espacial de las concentraciones de elementos químicos.....	73
3.6.2 Correlación entre elementos químicos.....	76
3.7 Discusión.....	81
3.7.1 Análisis por elemento.....	82
3.7.2 Correlación entre elementos químicos	95
3.8 Conclusiones.....	97
Capítulo 4. Relación de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ y elementos químicos en la foca de puerto del Pacífico en colonias mexicanas.....	100
4.1 Introducción.....	100
4.2 Hipótesis	101
4.3 Objetivos.....	102
4.4 Metodología.....	102
4.4.1 Análisis estadísticos.....	102
4.5 Resultados.....	102
4.5.1 Relación entre los valores del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ y elementos químicos.....	103
4.6 Discusión.....	107
4.6.1 Relación con la dieta.....	108
4.8 Conclusiones.....	109
Capítulo 5. Conclusiones generales.....	110
Capítulo 6. Recomendaciones.....	112
Literatura citada.....	113

Lista de figuras

Figura	Página	
1	Distribución de la común (<i>Phoca vitulina richardii</i>) en México. Comprende nueve islas o grupos de islas al oeste de la Península de Baja California. Tomado de (Lubinsky-Jinich et al., 2017).....	3
2	Unidad pilosebácea o pelo bulto típica de un mamífero adaptado de (Pabst et al., 1999). Contiene pelo de guarda junto con un número variable de pelos por debajo más pequeños, cada pelo se levanta de su propio folículo. Todos los folículos se abren en un conducto pilar común junto con las aberturas de glándulas sudoríparas y sebácea.....	7
3	Sitios de estudio de la presente investigación, como colonias representativas de la foca de puerto del Pacífico a lo largo de su distribución en México, de norte a sur: Isla Todos Santos (ITS), Estero de punta Banda (EPB), Isla San Jerónimo (ISJ), Isla Natividad (IN) e Isla San Roque (ISR).....	15
4	Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm DE) de pelo de crías de foca de puerto del Pacífico en diferentes sitios a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (ITS = Isla Todos Santos, EPB = Estero de Punta Banda, ISJ = Isla San Jerónimo, IN = Isla Natividad, y ISR = Isla San Roque).....	28
5	Distribución de los valores $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ del pelo de cría de focas del puerto del Pacífico en los cinco sitios de muestreo a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California. Las líneas continuas representan las elipses estándar corregidas para el tamaño de muestra (SEAc) y las líneas discontinuas representan las áreas polígonos convexos.....	30
6	Densidad SIBER, con intervalos de credibilidad (50% cajas de color gris oscuro, 75% cajas de color gris medio, 100% cajas de color gris claro), para las elipses bayesianas generadas (SEA - puntos negros) para el datos isotópicos de las crías de foca de puerto del Pacífico superpuestos con el tamaño de la muestra corregido por la incertidumbre en las estimaciones (SEA _c -cruces rojas). La distribución en las estimaciones del área de la elipse estándar (‰) se basa en 10 ⁶ corridas de remuestreo.....	31
7	Especies presas de foca de puerto identificadas por análisis de restos duros en excretas (Durazo-Rodríguez, 2015), con su correspondiente nivel trófico estimado (eje x), Índice de Importancia (IIMPi, varía de acuerdo al tamaño del círculo) y tipo de hábitat predominante (colores de círculos), en a) Isla Todos Santos, b) Isla San Jerónimo, c) Isla Natividad, y d) Isla San Roque, en temporada reproductiva.....	33
8	Concentraciones de elementos químicos a) Ag, b) As, c) Ba, d) Ca, e) Cd, f) Co, g) Cu, h) Fe, i) Mg, j) Pb, k) Sb, l) Se, m) V, n) Zn en el pelo de las crías de de puerto del Pacífico en las colonias mexicanas Isla Todos Santos (ITS), Estero Punta Banda (EPB), Isa San Jerónimo (ISJ), Isla Natividad (ISN), e Isla San Roque (ISR).....	69

9	Correlaciones positivas entre Ca-Fe, Ca-Mg, Co-Sb, Co-Zn, Co-V y negativas entre Sb-V y V-Zn.....	78
10	Correlaciones positivas entre a) $\delta^{15}\text{N}$ y Ba, b) $\delta^{15}\text{N}$ y Ca, c) $\delta^{15}\text{N}$ y Se, en Isla Todos Santos.....	103
11	Correlación positiva entre a) $\delta^{13}\text{C}$ y Ca y b) $\delta^{13}\text{C}$ y Cd en Isla Todos Santos.....	104
12	Correlación positiva entre a) $\delta^{15}\text{N}$ y Ca, en Estero Punta Banda.....	104
13	Correlación entre a) $\delta^{13}\text{C}$ y Ca, b) $\delta^{13}\text{C}$ y Se y c) $\delta^{13}\text{C}$ y V en Isla San Jerónimo.....	106
14	Correlación entre a) $\delta^{13}\text{C}$ y Se y b) $\delta^{13}\text{C}$ y Zn en Isla Natividad.....	107

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm DE) de pelo de crías de foca de puerto del Pacífico muestreadas en cinco sitios a lo largo de la costa occidental de la Península de Baja California, ubicación geográfica de cada sitio y su distancia a la costa.....	28
2	Resultados de las pruebas <i>a-posteriori</i> del $\delta^{13}\text{C}$ de las crías de foca del Pacífico en los cinco sitios de muestreo a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (ITS = Isla Todos Santos, EPB = Estero de Punta Banda, SJI = Isla San Jerónimo, IN = Isla Natividad, e ISR = Isla San Roque).....	29
3	Áreas totales (TA) y traslapes de los polígono convexos calculados con base en los valores del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ del pelo de cría de focas de puerto del Pacífico muestreadas en cinco sitios a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (ITS = Isla Todos Santos, EPB = Estero de Punta Banda, ISJ = Isla San Jerónimo, IN = Isla Natividad, e ISR = Isla San Roque).....	30
4	Áreas y traslapes de las áreas de las elipses estandares corregidas para el tamaño de muestra (SEA_c) y calculadas para los $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las crías de foca de puerto del Pacífico en los cinco sitios de muestreo a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (ITS = Todos Isla Santos, EPB = Estero de Punta Banda, ISJ = Isla San Jerónimo, IN = Isla Natividad, e ISR = Isla San Roque).....	31
5	Riqueza de especies (número de especies de presa) en cuatro colonias con su correspondiente área de elipse estándar (SEA_c) y Área total (TA) del polígono convexo calculadas a partir del análisis isotópicos en el pelo de las crías de foca de puerto del Pacífico.....	32
6	Número de especies de presas compartidas entre los sitios de estudio, con sus áreas de traslape correspondientes ($\%^{2}$).....	35
7	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (promedio \pm DE) en el pelo de diferentes especies de pinnípedos del Océano Pacífico Oriental y Golfo de California.....	39
8	Concentraciones de elementos químicos en pelo de <i>Phoca vitulina</i> en poblaciones de diferentes partes del mundo.....	61
9	Fase de operación del horno de microondas para la digestión.....	66
10	Valores certificados de los elementos en el pelo humano (Material Certificado No.13 de la INES) \pm desviación estándar en $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco.....	67
11	Valores de referencia de los elementos en el pelo humano (Material Certificado No.13 de la INES) en $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco.....	67
12	Concentraciones promedio de elementos químicos ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) \pm desviación estándar (DS), valores máximos (max) y mínimo (min) en el pelo de las focas de	

	puerto en colonias mexicanas: Isla Todos Santos (ITS), Estero Punta Banda (EPB), Isla San Jerónimo (ISJ), Isla Natividad (ISN), e Isla San Roque (ISR).....	72
13	Matriz de correlación de los elementos traza estudiados con su respectivo coeficiente de correlación de Spearman (“ ρ ” rho de Spearman) y su valor p (valor $p < 0.05$, significación estadística resaltado en rojo).....	77
14	Matriz de correlación entre las concentraciones de elementos químicos y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en cada sitio de estudio (ITS, EPB, ISJ, IN e ISR).....	105

Capítulo 1. Introducción general

La foca de puerto del Pacífico (*Phoca vitulina richardii*) está distribuida ampliamente en el Pacífico norte, habita principalmente aguas costeras, islas, bahías y esteros (Rice, 1998). En algunas regiones su hábitat colinda con zonas urbanas/industrializadas o incluso coincide con algunas actividades humanas, lo que hace vulnerable a esta especie debido a que realiza parte de su ciclo de vida (alimentación, reproducción, muda o descanso) en éstas áreas (Miles et al., 1992).

En últimas décadas se ha incrementado a escala global la liberación al ambiente de elementos químicos debido a diversas actividades antropogénicas (Purves, 2012). Estos elementos llegan al mar vía descargas residuales, acuicultura, escorrentías superficiales como producto de la agricultura, deposición atmosférica, tráfico marítimo, etc. y son transportados por corrientes marinas (Vizzini et al., 2013). Por lo que los organismos acuáticos de vida libre quedan expuestos a dichos elementos, que si bien pueden tener un origen natural, muchos de ellos debido a las actividades humanas alcanzan concentraciones por encima de los niveles naturales en cada escalón de la cadena trófica, volviéndose tóxicos (Hirata et al., 2010). A pesar de que cada organismo tiene capacidades diferentes para metabolizarlos, en depredadores tope algunos elementos tienden a bioacumularse o biomagnificarse, afectando su salud y la dinámica del ecosistema marino (Britt y Howard, 1983; Reijnders, 1994). Además, la toxicidad, la biodisponibilidad, el origen y la movilidad de estos elementos en el ecosistema son afectados por procesos biogeoquímicos, lo que hace aún más complejo su entendimiento (Wiederhold, 2015).

Para monitorear la salud de los ecosistemas varias especies de mamíferos marinos han probado ser buenos bioindicadores ambientales para monitorear a salud de los ecosistemas (Marcovecchio et al., 1994; Mössner y Ballschmiter, 1997; Das et al., 2002). La foca de puerto del Pacífico, al ser un pinnípedo longevo, ocupar una posición trófica alta, ser filopátrica, estar involucrada en la transferencia de energía y nutrientes por ser un depredador tope y regular el tamaño poblacional de sus especies presa, la colocan como una especie bioindicadora no sólo de contaminación, sino también de condiciones ecosistémicas, procesos biogeoquímicos y cambios oceanográficos del hábitat donde se encuentre (Trillmich y Ono, 1991; Würsig et al., 2002; Bossart, 2006).

Dado que la dieta es una de las entradas principales de elementos químicos hacia los organismos, el conocimiento de sus hábitos alimentarios resulta esencial para este tipo de estudios. Una de las técnicas más utilizadas para determinar dichos hábitos, es la del análisis de isótopos estables de nitrógeno y carbono (AIE), que proporciona información a diferentes escalas temporales dependiendo del tejido a

analizar (sangre, músculo, piel, pelo, vibrisas o hueso) de la dieta asimilada y de variaciones ambientales (Owens, 1987; Hobson et al., 1996). Típicamente el $\delta^{15}\text{N}$ es usado para determinar el nivel trófico ocupado por un consumidor, y el $\delta^{13}\text{C}$ para identificar las áreas preferentes de alimentación del depredador (DeNiro y Epstein, 1978 ; DeNiro y Epstein, 1981 ; Hobson et al., 1994 ; Hobson et al., 1997; Hobson, 1999; Newsome et al., 2010).

Hasta la fecha, no existen trabajos que hayan conjuntado ambas técnicas para estudiar los hábitos alimentarios y estructura trófica, así como la ecotoxicología de esta especie centinela en colonias mexicanas, a pesar de que las leyes mexicanas a través de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 la catalogan como sujeta a protección especial (SEMARNAT, 2010). En esta ley se manifiesta la necesidad de planes de manejo adecuados en las islas donde existan actividades humanas de aprovechamiento, con el fin de garantizar la salud de las poblaciones de vida silvestre que ahí habiten. Con base en lo anterior, los planes de manejo y conservación para esta subespecie en México deberían incluir la protección de las áreas dónde se alimentan las focas y el monitoreo de las posibles amenazas relacionadas con la actividad humana como el disturbio en su hábitat natural y contaminación de su medio marino.

La combinación de estas dos técnicas (concentración de elementos químicos y AIE) se ha relacionado para evidenciar diferencias regionales, procesos locales biogeoquímicos (Das et al., 2003; Dehn et al., 2006b), y como trazadores de fuentes de contaminación (Miles et al., 1992), debido a que cada elemento potencialmente tiene sus propias fuentes u origen, y los valores isotópicos podrían servir como huella digital para inferir los hábitos alimentarios (Borrell et al., 2006).

Por lo que el objetivo principal de la presente investigación fue utilizar a la foca de puerto como especie bioindicadora de procesos biogeoquímicos locales naturales y de sitios contaminados a través de la medición de las concentraciones de Ag, As, Ca, Cu, Cd, Fe, Mg, Pb, Se, Sb, V y Zn, así como conocer los hábitos alimentarios de las focas madre mediante el análisis de isótopos estables de C y N ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) utilizando el pelo de las crías pertenecientes a cinco sitios representativos de su distribución en México: Estero de Punta Banda, islas Todos Santos, San Jerónimo, Natividad y San Roque, ubicados a lo largo de la costa este de la Península de Baja California, en temporada de cría (de febrero a abril) de 2015.

1.1 Antecedentes

1.1.1 Generalidades de la foca de puerto del Pacífico

La foca común (*Phoca vitulina*) es el pinnípedo con la distribución más amplia en el mundo, se localiza únicamente en el Hemisferio Norte (Allen et al., 2011). Actualmente se reconocen tres subespecies: *P. v. vitulina*, *P. v. mellonae* y *P. v. richardii* distribuidas en el Océano Atlántico, lagos de la Península Ungava en Canadá y en el Océano Pacífico, respectivamente (Committee on Taxonomy, 2019).

La distribución de la foca de puerto del Pacífico (*P. v. richardii*) abarca desde Japón hasta su límite más sureño en Bahía Asunción, Baja California Sur, México (Gallo y Aurióles, 1984 ; Lubinsky-Jinich, 2010). Su distribución en México incluye nueve islas: Coronados, Todos Santos, San Martín, San Jerónimo, San Benito, Cedros, Natividad, Asunción y San Roque (Gallo y Aurióles, 1984 ; Maravilla y Lowry, 1999; Lubinsky-Jinich, 2010; Lubinsky-Jinich et al., 2017) (Figura 1). Sin embargo, existen en México otros sitios en los que se han encontrado colonias de foca común, a lo largo de la costa oeste de Baja California, desde Ensenada hasta Bahía Asunción (Lubinsky-Jinich, 2010). La abundancia de su población en México es de 11,967 individuos (Lubinsky-Jinich, 2019).

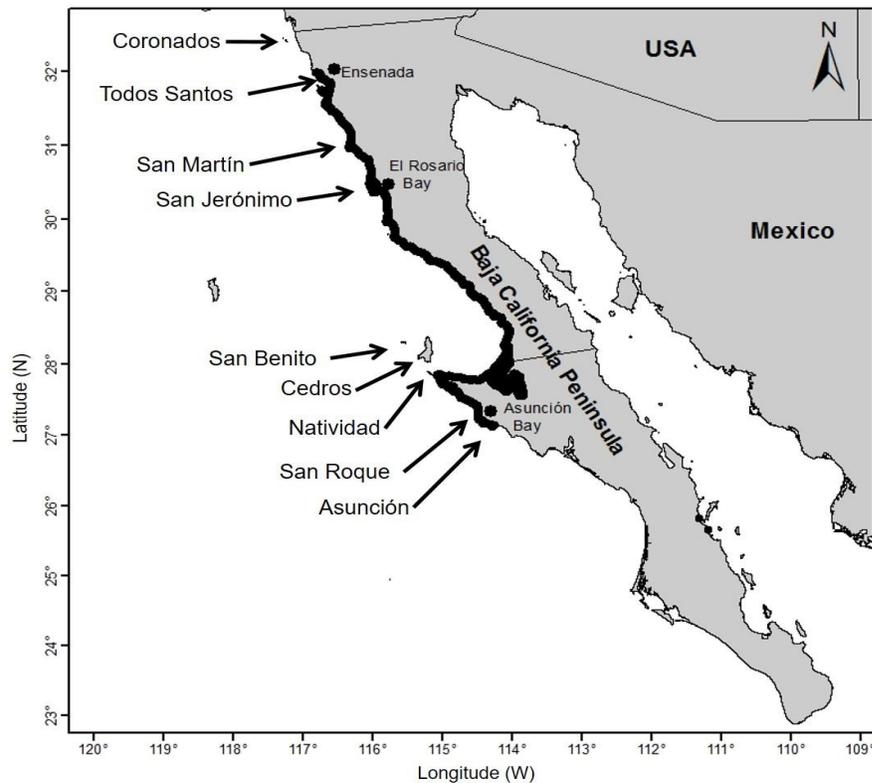


Figura 1. Distribución de la foca de puerto del Pacífico (*Phoca vitulina richardii*) en México. Comprende nueve islas o grupos de islas al oeste de la Península de Baja California, así como la costa desde Bahía Asunción hasta Ensenada. Tomado de (Lubinsky-Jinich et al., 2017).

La elección del sitio por las focas está vinculada a factores como la disponibilidad de presas, presencia de otros depredadores y actividades humanas (Arias del Razo, 2016). Prefieren zonas altamente productivas (Pitcher y McAllister, 1981; Suryan y Harvey, 1998), poco perturbadas (Suryan y Harvey, 1999), protegidas del viento (Bjørge et al., 2002) y con acceso a aguas profundas (Montgomery et al., 2007).

De acuerdo a la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) (IUCN, 2008) es una especie con la categoría de menor riesgo, por su abundancia y amplia distribución a nivel mundial (Lowry, 2016). Desde 2016, *P. v. richardii* se reconoce como la misma subespecie dentro del Pacífico Norte, eliminándose *Phoca vitulina stejnegeri* por decisión del Comité de Taxonomía de la Sociedad Internacional de Mamíferos Marinos, hasta no contar con datos suficientes de las evaluaciones de los límites de las subespecies de varias poblaciones. En nuestro país es una especie sujeta a protección especial por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010), el cual es el menor estatus de protección, debido probablemente a la falta de información sobre esta subespecie en México.

P. v. richardii presenta una alta filopatría, es decir regresa al mismo sitio donde nació para reproducirse (Lowry et al., 2001). La fidelidad al sitio varía entre categorías de edad y sexo; las crías permanecen en un sólo sitio por periodos de 1 a 5 meses, los juveniles se desplazan de 300 a 500 km, las hembras muestran una fidelidad del 100% en temporada reproductiva y fuera de ella no se alejan más de 7 km y esta distancia se ve aumentada conforme avanza su edad y finalmente los machos se dispersan hasta en un radio no mayor a los 32 km (Härkönen y Harding, 2001). En México, para Isla Todos Santos se reportó que en general las focas realizan movimientos cortos a una distancia <30km de su sitio de descanso, aunque en el caso de una hembra presumiblemente juvenil, esta se alejó 175km. (Lubinsky-Jinich, 2019).

En cuanto a su reproducción, la temporada de cría en México presenta una clina de sur a norte, en la cual los nacimientos ocurren en Isla San Roque de finales de diciembre a marzo, y en Islas Todos Santos de finales de enero a principios de abril (Fernandez-Martín et al., 2016). En el Estero de Punta Banda se ha observado que los nacimientos inician 27 días después que en Islas Todos Santos, a pesar de que ambas colonias se encuentran a la misma latitud posiblemente debido a condiciones oceanográficas distintas tales como anomalías muy calientes y a una disminución en la disponibilidad de alimento (Fernandez-Martín et al., 2016) o diferencias genéticas (Fernández Martín, 2018). El periodo de gestación dura 9 meses aunque las crías nacen al año debido a la implantación retardada, lo que les asegura un éxito reproductivo al nacer en una temporada más favorable (Daniel, 1981; Temte, 1985; Sandell, 1990; Boyd, 1991; Greig, 2002).

1.1.2 Alimentación

La foca de puerto se alimenta cerca de sus zonas de descanso en tierra, usualmente dentro de los 50 km de costa (Härkönen, 1987a; Frost et al., 2001). La variación dentro de las áreas de alimentación puede ser atribuida al uso de diversas tácticas o estrategias individuales, como ocurre en otros pinnípedos (Boyd et al., 1994). Las diferencias en la captura de las presas pueden deberse a ciertos factores como edad, sexo, tamaño, competencia intra e inter-específica, experiencia o selección del hábitat (Staniland et al., 2004). Durante la temporada reproductiva la distribución de las hembras durante el forrajeo (en la lactancia tardía) es influenciada por la proximidad al sitio reproductivo (donde amamantan a sus crías) y la distribución de los machos adultos y subadultos es a su vez influenciada por el acceso a las hembras (Van Parijs et al., 1997). Los machos tienden a hacer viajes de alimentación más cortos en la temporada reproductiva, y reducen su rango de distribución, a la vez que sus buceos también son más cortos en tiempo (Van Parijs et al., 1997).

Los machos enfrentan continuamente el conflicto entre permanecer cerca de tierra en donde la probabilidad de encuentros con hembras es más alto y la oportunidad de alimentarse, la cual está limitada por la competencia con otros machos (Van Parijs et al., 1997). El apareamiento marca una conducta alimentaria importante en los machos; antes de su inicio los machos tratan de ganar peso, alimentándose en aguas profundas alejadas de la costa y durante el mismo sus movimientos son más superficiales, guardando cercanía a los sitios de descanso (Coltman et al., 1998).

Härkönen (1987b) menciona que los tamaños de las zonas de alimentación dependen de la batimetría y condiciones físicas locales, además de que la baja densidad de presas en aguas superficiales y el gran costo energético de buceos en aguas profundas hacen que el forrajeo en aguas de profundidad intermedia tenga una ganancia máxima de energía. La elección de una profundidad de inmersión óptima depende de varios factores como la batimetría local, la capacidad de maximizar la tasa de tiempo dedicada a alimentación, la disponibilidad de presas, los costos y beneficios de alimentarse de diferentes especies presa y las limitaciones fisiológicas (Eguchi y Harvey, 2005).

Su dieta es altamente variada, y difiere entre colonias de distintas áreas. Además, está asociada a los cambios estacionales, a la abundancia y disponibilidad de presas, por lo que se le considera oportunista. En consecuencia, ciertas especies dominan su dieta en determinadas regiones y estaciones del año (Härkönen, 1987b).

Entre sus presas principales están las que se encuentran dentro de las familias Gadidae (bacalao), Merlucciidae (merluza), Pleuronictidae (lenguado), Cupleidae (arenque), Scorpaenidae (escorpión), Salmonidae (salmón), Embiotocidae (mojarras), Ophidiidae (congriperlas) y Mixinidae (mixinos) (Everit et al., 1981; Trumble, 1995). Más específicamente para Alaska y California, algunas de las especies que han sido reportadas como presas de la foca común son: peces roca (*Sebastes spp.*), merluza del Pacífico (*Merluccius productus*), pez sapo cabezón (*Porichthys notatus*), calamar opalescente (*Doryteuthis opalescens*), anchoveta de California (*Engraulis mordax*), corvineta blanca (*Genyonemus lineatus*), lenguado moteado (*Citharichthys sordidus*) y arenque del Pacífico (*Cuplea payais*) (Trumble, 1995).

En otras partes del mundo se ha reportado a la foca común como una especie generalista, es decir, que se alimenta de una amplia variedad de peces, cefalópodos y crustáceos de hábitats pelágicos, aguas medias y bentónicos (Grigg et al., 2009; Steingass, 2017). Sin embargo, a partir de los estudios que se han realizado en México para conocer la dieta de la foca de puerto, se le ha considerado como una especie especialista con una amplitud trófica de 0.27 y con un nivel trófico de 4.61, que la ubica como un depredador tope; con base en la identificación de restos duros (otolitos de peces y picos en cefalópodos) en las excretas, las especies más consumidas en Isla Todos fueron *Sebastes spp.*, *Synodus lucioceps* y *Doryteuthis opalescens* (Alamán-de-Régules, 2014). En el análisis realizado por Durazo-Rodríguez (2015) en 2014, se encontró que para las islas Todos Santos, San Jerónimo, Natividad y San Roque las especies más consumidas durante la temporada de premuda y muda fueron los peces rocote (*Sebastes spp.*) y el pez lagarto (*Synodus lucioceps*), al igual que para la temporada de crianza en Isla Todos Santos, sin embargo para Isla Natividad la especie más consumida fue el lenguado (*Citharichthys sordidus*); en Isla San Jerónimo las especies más importantes fueron los rocotes y los pulpos, mientras que en Isla San Roque hubo una mayor preferencia por *Octopus spp.*, *C. sordidus* y *P. nonatus*.

Brassea-Pérez et al. (2019), a través de cuatro excretas pertenecientes al mismo muestro de Durazo-Rodríguez (2015) y utilizando el método de secuenciación masiva identificaron una mayor riqueza de especies. Estos autores reportaron 49 presas, principalmente peces óseos (los más comunes fueron *Citharichthys xanthostigma* y *Synodus lucioceps*), incluyendo 14 especies de invertebrados y elasmobranquios.

1.1.3 Uso del pelo como bioindicador

El pelo consiste de células epidérmicas queratinizadas, formadas de folículos pilosos localizados en la capa dérmica de la piel (Figura 2). En pinnípedos, los pelos están aplanados en sección transversal a diferencia de como ocurre en otros carnívoros, que son de forma redonda. La anterior constituye una adaptación para mejorar la hidrodinámica del cuerpo al reducir la fricción durante la natación (Yochem y Stewart, 2009).

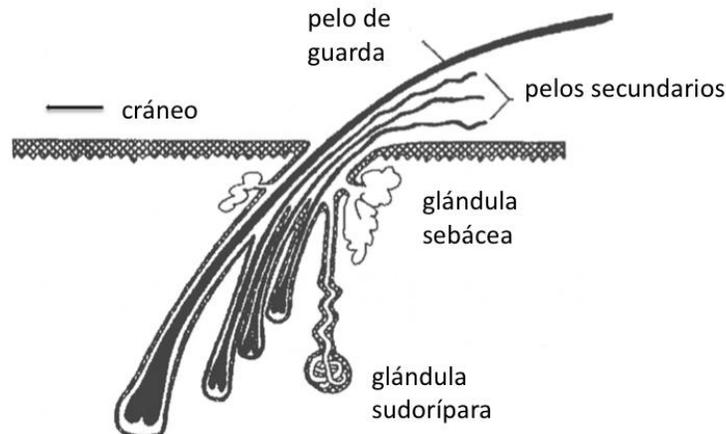


Figura 2. Unidad pilosebácea o pelo bulto típica de un mamífero adaptado de Pabst et al. (1999). Contiene pelo de guarda junto con un número variable de pelos por debajo más pequeños, cada pelo se levanta de su propio folículo. Todos los folículos se abren en un conducto pilar común junto con las aberturas de glándulas sudoríparas y sebáceas.

En el momento del crecimiento, los tejidos queratinizados como el pelo, pueden reflejar las concentraciones circulantes (por ejemplo, de sangre) de algunos elementos químicos como se ha comprobado en otras especies en experimentos controlados, por lo que el pelo ha mostrado ser un buen tejido bioindicador (Furness et al., 1986; Pilarczyk et al., 2010; Wang et al., 2014).

En años recientes, el análisis de pelo se ha utilizado comúnmente en estudios nutricionales, y ecotoxicológicos (Bencko, 1995; Kempson et al., 2007) y aunque otros tejidos, como la sangre o el plasma, han sido más confiables en la detección de deficiencias nutricionales y como biomarcadores ante la exposición a tóxicos (Rodrigues et al., 2008), estos trabajos se reportan mayoritariamente en humanos (Kumakli et al., 2017), ya que su aplicabilidad en poblaciones de vida silvestre resulta difícil. Sin embargo, algunos estudios confirman que es un confiable bioindicador ecotoxicológico al encontrar altas correlaciones de elementos químicos en las comparaciones de pelo con cualquier otro biomarcador. Un ejemplo de lo anterior es la misma variación de cobre en sangre que en pelo (Rodrigues et al., 2008).

En mamíferos marinos, se ha incrementado el uso de pelo para determinar concentraciones de elementos químicos debido a que ha mostrado ser un buen bioindicador de la salud del ecosistema (Wenzel et al., 1993; Fossi, 1994; Brookens et al., 2007; Brookens et al., 2008; Elorriaga-Verplancken y Auriolles-Gamboa, 2008; Aubail et al., 2011), además representa un material de fácil acceso y recolección (impacto de colecta en el animal es limitado), transporte, almacenamiento y preservación, tiene un período de crecimiento discreto en muchas especies y buena detectabilidad analítica para evaluar la exposición ambiental a elementos tóxicos debido a su alta afinidad o unión con algunos metales y proteínas (Castellini et al., 2012). En particular, existen varios estudios que utilizan el pelo de foca de puerto de crías para detectar metales (Brookens et al., 2007; Brookens et al., 2008; Peterson et al., 2015).

La fuente nutricional del crecimiento del pelo es el suministro de sangre, el cual contiene rastros del material ingerido por el individuo. De esta manera cualquier xenobiótico y sus metabolitos pueden incorporarse a la matriz de crecimiento del pelo creando un perfil que, dependiendo de su longitud, puede representar un período de unos pocos días a meses o incluso varios años (Tobin, 2005). En mamíferos marinos, el pelo no crece continuamente como en los humanos, pero sí es mudado cada cierto tiempo dependiendo de la especie. En el caso particular de la foca de puerto del Pacífico, la biosíntesis del pelo comienza en el sexto mes durante el desarrollo embrionario, y cuando la cría nace el crecimiento del pelo ya no continúa, por lo que se sugiere que la ventana temporal que nos ofrece el pelo es de los últimos 3-4 meses del desarrollo embrionario; período en el cual la madre elimina los metales vía transporte transplacentario, alterando los contenidos en las crías como ya se ha reportado en otras especies de pinnípedos (Holden, 1978; Wagemann et al., 1988).

Las concentraciones de elementos químicos en el pelo pueden estar relacionadas a procesos biológicos (Tobin, 2005). Algunos metales están involucrados en roles asociados con la prevalencia y la progresión de ciertas enfermedades, p.e. la competitividad entre el Se y Pb en el desarrollo de tumores mamarios (Schrauzer, 2008), el rol del Cu y Zn en la carcinogénesis (Yaman, 2006), las variaciones del Zn podrían tener un impacto negativo en la aterosclerosis (Lobo et al., 2010) y en la deficiencia nutricional, la exposición al arsénico induce intolerancia a la glucosa (Hill et al., 2009), etc. En general, la variación de los niveles en las concentraciones de los elementos químicos puede dar lugar a la alteración en el transporte e incorporación de otros elementos, en el crecimiento y expresión celular homeostática, lo que puede conducir al desarrollo de enfermedades (Kempson et al., 2007).

1.2 Justificación

A nivel internacional la Lista Roja De Especies Amenazadas de la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) (IUCN, 2008) ha catalogado a *P.v. richardii* en el status especie de “menor preocupación”, y en México está en la categoría “sujeta a protección especial” por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010). En esta categoría están aquellas especies que podrían llegar a encontrarse amenazadas por factores que inciden negativamente en su viabilidad, por lo que es necesario propiciar su recuperación y conservación.

Para poder cumplir con lo anterior y garantizar la protección y conservación de la foca de puerto del Pacífico en México, es necesario conocer su distribución y abundancia, el estado de salud de su hábitat, identificar sus amenazas actuales y potenciales, determinar sus relaciones tróficas y hábitos alimentarios, conocer sus interacciones con los humanos o la existencia de traslape de estas actividades que afecten el ciclo natural de la foca de puerto, sobretodo en la temporada reproductiva. De esta manera, teniendo la información básica de la especie se podría generar un plan de manejo adecuado para la especie y ayudar a delimitar áreas marinas para su protección.

En México, hasta la fecha se han hecho grandes avances en la investigación de la foca de puerto del Pacífico. Entre los trabajos más sobresalientes están el de la fenología de sus nacimientos (Fernández Martín, 2012), la muda (Tapia-Harris, 2015), la dieta (Alamán-de-Régules, 2014; Durazo-Rodríguez, 2015; Brassea-Pérez, 2016; Brassea-Pérez et al., 2019), la diversidad genética (Fernández-Martín 2018), la lactancia y efectos de actividades humanas en la colonia del Estero de Punta Banda (Ruiz-Mar, 2016), la microbiota intestinal (Pacheco-Sandoval et al., 2019), la abundancia y los movimientos horizontales (Lubinsky-Jinich et al., 2017; Lubinsky-Jinich, 2019).

Sin embargo, algunos aspectos de suma importancia como su ecotoxicología y hábitos alimentarios siguen siendo desconocidos, al igual que su relación con actividades antropogénicas, procesos biogeoquímicos y oceanográficos que ocurren en las colonias a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California.

Debido a la complejidad de estudiar la estructura y salud de los ecosistemas, así como la ecología de especies marinas de vida silvestre, resulta imprescindible el uso de herramientas indirectas que permitan aproximarnos a conocer y entender estos aspectos y procesos en el ecosistema.

En particular, los estudios de la dieta que se han llevado a cabo en nuestro país, a pesar de que logra la identificación de las presas consumidas por las focas a nivel de especie, no proporcionan información de la dieta asimilada (Alamán-de-Régules, 2014; Durazo-Rodríguez, 2015). Además, existe sesgo al subestimar presas debido a la digestión y al muestreo restringido de la colecta de excretas en la costa (Da Silva y Neilson, 1985; Tollit et al., 1997; Bowen, 2000). Otra desventaja es la pequeña escala temporal de la que se obtiene la información, ya que los análisis de excretas reflejan la dieta de los últimos días (Elorriaga-Verplancken et al., 2013b). El conocimiento de sus hábitos alimentarios, áreas preferenciales de alimentación, tipo y nivel trófico de sus presas, amplitud y traslape de nicho, cobra importancia al ser un depredador que ejerce un control de arriba hacia abajo sobre las especies de niveles tróficos inferiores de los que se alimenta (Herreman et al., 2009). Por lo tanto, en este trabajo se hizo el análisis del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en el pelo para tener una escala temporal y espacial más amplia de sus hábitos alimentarios y en este sentido poder relacionarlos con los procesos biogeoquímicos, eventos oceanográficos y posibles fuentes de contaminación del área de estudio.

Otro de los puntos importantes para poder salvaguardar una especie, es conocer su estado de salud y la identificación de amenazas. Al respecto, este trabajo es el primero en medir las concentraciones de elementos químicos en esta subespecie, lo cual permitió sentar la línea base para futuros trabajos en este campo, su potencial grado de contaminación, evaluar si los valores obtenidos para los sitios de estudio son resultado natural de procesos biogeoquímicos/oceanográficos particulares de la zona o si sobrepasan el umbral tóxico y representan un peligro para la salud de la especie, es decir conocer sus posibles orígenes (natural o antropogénico). De esta manera, podemos tener una aproximación de la salud del ecosistema en el que se encuentra la foca de puerto, sobretodo en aquellos hábitats críticos o más vulnerables como lo es el Estero de Punta Banda, por su cercanía a una zona urbanizada y porque dentro de las colonias en México es la más pequeña y aislada genéticamente (Fernández Martín, 2018).

1.3 Hipótesis general

El análisis del pelo de las crías de la foca de puerto del Pacífico permite conocer los hábitos alimentarios de la madre, identifica procesos biogeoquímicos locales y posibles fuentes de contaminación, a partir de diferencias entre los sitios de muestreo, con respecto a las composiciones isotópicas de carbono y nitrógeno y de las concentraciones de elementos químicos.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Analizar las concentraciones de elementos químicos y su relación con los valores de isótopos estables de carbono y nitrógeno en el pelo de crías de foca de puerto del Pacífico pertenecientes a colonias distribuidas a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California en la temporada reproductiva del año 2015, utilizando a la especie como bioindicador de procesos biogeoquímicos, sitios contaminados y de sus áreas preferentes de alimentación en México.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Conocer los hábitos alimentarios de la foca de puerto del Pacífico en colonias de México a través del análisis del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en el pelo de las crías. Objetivo desarrollado en el capítulo 2 de la presente investigación.
2. Determinar las concentraciones de los elementos químicos: Ag, As, Ca, Cu, Cd, Fe, Mg, Pb, Se, Sb, V y Zn, en el pelo de crías de foca de puerto del Pacífico. Objetivo desarrollado en el capítulo 3.
3. Correlacionar las concentraciones de los elementos químicos con los valores de isótopos estables de carbono y nitrógeno por sitio de estudio. Objetivo desarrollado en el capítulo 4.

1.5. Metodología

1.5.1 Área de estudio

La costa occidental de Baja California es el límite sur del Sistema de la Corriente de California (SCC), el cual presenta un flujo superficial a lo largo de la costa con dirección al Ecuador que lleva agua subártica fría, una corriente subsuperficial hacia el polo que fluye a lo largo del borde del talud continental, y una surgencia costera causada por los vientos del norte la mayor parte del año (Baumgartner et al., 2008).

Dicha zona es considerada de transición donde el flujo hacia el Ecuador, relativamente frío de la Corriente de California (CC) que transporta agua de norte a sur, se encuentra con aguas tropicales y subtropicales más saladas y cálidas (Lynn y Simpson, 1987; Baumgartner et al., 2008). La frontera entre estas aguas exhibe un desplazamiento latitudinal en escalas temporales (Lynn y Simpson, 1987). A escala estacional, las aguas subárticas dominan durante primavera y verano, donde se encuentra el máximo de surgencias, mientras que las influencias tropicales y subtropicales se presentan en el verano y otoño (Espinosa-Carreón et al., 2004). Estas diferencias pueden afectar la dispersión, distribución y abundancia de las presas potenciales de la foca de puerto (Payne y Selzer, 1989; Thompson et al., 1991; Bowen y Harrison, 1996; Elorriaga-Verplancken et al., 2013b).

En cuanto a surgencias, éstas son causadas por la dirección del viento hacia el Ecuador, que sopla constantemente a lo largo de la costa, formando el transporte de Ekman (basado en la tensión del viento y la fuerza de Coriolis). El agua superficial, que se mueve lejos de la costa continental occidental, es sustituida por agua más fría y salada, proveniente de las profundidades, acarreado nutrientes a la capa superficial. El afloramiento afecta todos los parámetros físicos del agua de mar, incluyendo la estructura termohalina y la circulación. Los procesos de surgencia tienen un máximo de marzo a junio, con un índice de surgencia que varía entre los 50-300 m³/s por 100m de la línea de costa, y es mucho más fuerte en la porción más norteña (Zaytsev et al., 2003).

Existen tres sitios importantes de surgencias en la costa occidental de la Península de Baja California: Punta Banda, Punta Baja y Punta Eugenia, que se presentan principalmente durante la primavera y el verano; sin embargo, a lo largo de la costa se presentan surgencias en menor grado (Baumgartner et al., 2008).

La temperatura superficial más baja se presenta cuando ocurren las surgencias, en las coordenadas 32.5 °N 116.5 W; 31.5° N 116.5° y W° 28.5° N 116.5° W durante el periodo de 1982 a 2007 y las temperaturas más altas se presentan al sur del estado de Baja California (28.5° N 116.5° W) (Durazo y Baumgartner, 2002).

Los sitios de estudio de la presente investigación se muestran en la Figura 3. Las muestras colectadas de pelo de foca de puerto pertenecen a cuatro islas de la costa oeste de Baja California y el Estero de Punta Banda, como una representación de la población de *P.v. richardii* en México.

Islas Todos Santos

Están localizadas en la Bahía de Todos Santos en Ensenada, Baja California. La Isla Todos Santos Sur es la más grande, localizada en los 31°48'7.91" N, 116°47'30.45" W con un perímetro de 8,734 metros, y en ella se encuentra una concesión para cultivo de peces. La Isla Todos Santos Norte, localizada a 31°48'38.89" N, 116°48'15.52" W cuenta con un perímetro de 3,332 m y está habitada por personal de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes (Samaniego et al., 2007).

Estero de Punta Banda

El Estero de Punta Banda (31° 42' a 31° 47' N y 116° 37' a 116° 40' W) se localiza en el noroeste de la Península de Baja California, en la zona suroeste de la Bahía de Todos Santos, a 13 km de Ensenada aproximadamente. En esta zona el clima es de tipo mediterráneo templado, caracterizado por un régimen de veranos cálidos e inviernos fríos con lluvias (Martinez-Inostros, 1994), durante los cuales se capta cerca del 36% de la precipitación, siendo la precipitación media anual de 296 mm. La temperatura media anual es de 16.7 °C, con una temperatura máxima de 23 °C y una mínima promedio de 10 a 11 °C (Palacios et al., 1991).

Isla San Jerónimo

Es una isla de origen continental, localizada frente a la Bahía de El Rosario, B.C. (29°47'32.96" N, 115°47'29.78" W), cuenta con un perímetro de 4,228 m. La habita personal de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes y pescadores temporales (Samaniego et al., 2007).

Isla Natividad

Es una isla de origen continental, frente a Punta Eugenia, dentro del Municipio de Mulegé, B.C.S., localizada en los 27°52'55.23" N y 115°11'33.71" W. Cuenta con un perímetro de 19,432 m. En ella hay una población aproximada de 200 habitantes (Samaniego et al., 2007).

Isla San Roque

Isla de origen continental, frente a la Bahía de Asunción, dentro del Municipio de Mulegé, B.C.S., localizada en los 27°8'48.31" N y 114°22'40.47" W. Cuenta con un perímetro de 4,856 m. En ella habitan únicamente vigilantes de la Sociedad Cooperativa de California de San Ignacio, SCL (Samaniego et al., 2007).

1.5.2 Trabajo de campo

De febrero a abril de 2015 se colectaron 138 muestras de pelo de cría de foca de puerto del Pacífico, de dos a cuatro semanas de edad de ambos sexos (ITS, n=39; EPB, n=12; ISJ, n=29; IN, n=27; ISR, n=31). Con la ayuda de una rasuradora marca Wahl modelo Lithium ion con cuchilla de acero inoxidable, se colectaron entre 3-5g de pelo de peso húmedo, alrededor de un parche de 10 cm² de la región baja dorsal de crías de *P.v. richardii*. Cada muestra se guardó en sobres rotulados con los siguientes datos: 1) número de la muestra, 2) sexo, 3) nombre de la isla/región, y 4) fecha de colecta.

1.5.3 Trabajo de laboratorio: preparación de las muestras

El lavado de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio de Biogeoquímica de Elementos Traza y Radioisótopos de CICESE (Ensenada, Baja California, México) bajo la dirección de la Dra. Lucila Reyes Lares.

Debido a que parte de las muestras biológicas fueron utilizadas para el análisis de elementos químicos, fue necesario realizar un lavado profundo del material utilizado para evitar su contaminación. Se realizó el siguiente protocolo: 1) lavado previo con jabón Citranox al 2% (libre de fosfatos), y secado a 60°C en un horno (marca THELCO) durante 12 h, 2) enjuague con agua bidestilada (H₂O DD), 3) limpieza con ácido clorhídrico (HCL) al 50%, donde el material se cubrió con este ácido y después se dejó secar en el horno por 12 h, 4) finalmente el material se enjuagó tres veces con H₂O DD y se dejó secar bajo una campana provista de aire filtrado y flujo laminar.

Las muestras de pelo se enjuagaron tres veces con acetona y tres veces con H₂O DD con movimientos oscilatorios dejando pasar entre cada enjuague cinco minutos, con la finalidad de remover contaminantes exógenos. Posteriormente, para eliminar toda la humedad, se secaron en el horno a 60°C entre 12 y 24 hrs. Una vez que las muestras estuvieron perfectamente secas, cada una se pesó y se guardó en bolsas de polietileno con su correspondiente etiquetado.

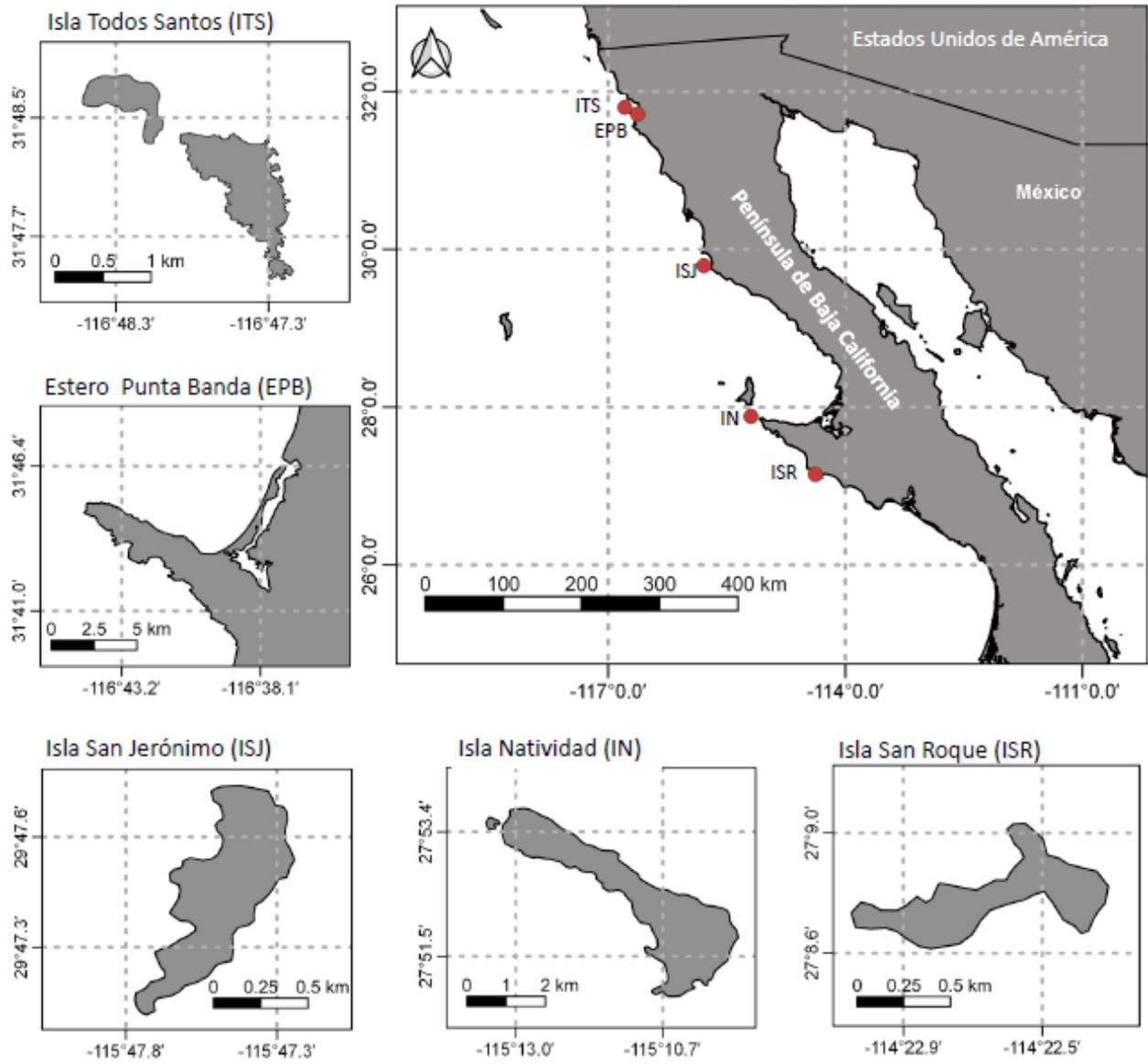


Figura 3. Sitios de estudio de la presente investigación, como colonias representativas de la foca de puerto del Pacífico a lo largo de su distribución en México, de norte a sur: Isla Todos Santos (ITS), Estero de Punta Banda (EPB), Isla San Jerónimo (ISJ), Isla Natividad (IN) e Isla San Roque (ISR).

Capítulo 2. Ecología trófica de la foca de puerto del Pacífico en colonias mexicanas a través del análisis del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$

Este capítulo forma parte del siguiente artículo:

Juárez-Rodríguez, M., Heckel, G., Herguera-García, J. C., Elorriaga-Verplancken, F. R., Herzka, S. Z. y Schramm, Y. 2020. Trophic ecology of Mexican Pacific harbor seal colonies using carbon and nitrogen stable isotopes. *PloS One*, 15 (1), e0225889. doi: 10.1371/Journal.pone.0225889.

2.1 Introducción

El concepto de ecología trófica se basa en comprender la estructura de las relaciones alimentarias entre los distintos niveles tróficos (Garvey y Whiles, 2016). Además, es de gran importancia para determinar el papel ecológico de depredadores tope, tal como la foca de puerto del Pacífico, ya que éstos ejercen un control de arriba a abajo, hacia niveles tróficos inferiores (Herreman et al., 2009). Estas interacciones tienen un impacto en la estructura, dinámica y flujo de energía dentro de una comunidad o ecosistema (Bossart, 2006; Heithaus et al., 2008). En el caso de la foca de puerto, sus interacciones pueden ser con miembros de la misma subespecie o con otros depredadores, lo que genera competencia por recursos o la partición de su nicho, como ya se ha reportado en otros pinnípedos (Páez-Rosas y Auriolles-Gamboa, 2010; Páez-Rosas et al., 2014).

La foca de puerto del Pacífico se distribuye desde Japón hasta México (Committee on Taxonomy, 2019), el cual es su límite más sureño. En nuestro país habita en nueve islas y archipiélagos, así como a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (Lubinsky-Jinich et al., 2017). La abundancia mundial total está estimada en aproximadamente 375,100 individuos (Harvey, 2016), para México a través de monitoreos aéreos se estimó un total de 11,967 individuos (Lubinsky-Jinich, 2019). El ciclo de vida anual de la foca de puerto comprende la búsqueda de alimento en el mar y zonas para su reproducción, muda y descanso, aunque la temporada de estos comportamientos desde su inicio, duración, máximo y finalización puede variar según la latitud en la que se encuentran las colonias (Temte et al., 1991). Los nacimientos de las focas, así como su posterior temporada de crianza en colonias mexicanas, comienza a mediados de invierno, entre finales de diciembre-febrero (Fernandez-Martín et al., 2016), por lo que la temporada de crías generalmente dura desde finales de diciembre hasta principios de abril, siendo más larga en las colonias del sur que en las colonias del norte (por ejemplo, en isla San Roque dura 14 semanas y en isla Todos Santos sólo nueve) (Fernandez-Martín et al., 2016; Ruiz-Mar, 2016). En consecuencia, se

producen diferentes grados de sincronización entre las hembras adultas de diferentes colonias, cuyo período de lactancia dura de tres a cuatro semanas (Ruiz-Mar, 2016). Contrario a lo que ocurre en otras especies de focas que ayunan durante la temporada de reproducción (por ejemplo, el elefante marino del norte, *Mirounga angustirostris*) (Le Boeuf et al., 2000), la foca de puerto tiende a alimentarse cerca de sus sitios de reproducción y muda, y no se aleja más de 45 km (Bjørge et al., 1995)

Estudios previos con base en el análisis de excretas y contenidos estomacales, han sugerido que la foca de puerto del Pacífico es un consumidor generalista con una alta tasa de consumo de presas bentónicas y pelágicas, principalmente peces y cefalópodos, y por lo tanto depende de sus abundancias locales y estacionales (Pitcher, 1980; Luxa y Acevedo-Gutiérrez, 2013; Gible y Harvey, 2015). Si bien estos análisis tradicionales permiten la identificación de presas hasta una resolución taxonómica a nivel de especie, están limitados a la ventana temporal que reflejan, es decir, sólo proporcionan información de los viajes de alimentación más recientes del individuo (días). Además, también existe la posibilidad de identificar erróneamente a las presas o a subestimarlas debido a la desintegración durante el proceso digestivo. Además, cada elemento presa puede subestimarse debido a los sitios donde se colectaron las excretas, ya que éstas pertenecen a las áreas cercanas a la costa, por lo que las presas consumidas en las áreas más oceánicas podrían no estar consideradas en el muestreo (Tollit et al., 1997; Bowen, 2000). Al respecto de la dieta de la foca de puerto en colonias mexicanas se sabe hasta ahora, a través de los análisis de excretas, que tiende a alimentarse principalmente de dos a cinco especies presa en cada colonia, lo que ha llevado a concluir que esta subespecie es un consumidor especialista (Elorriaga-Verplancken et al., 2013b; Alamán-de-Régules, 2014; Durazo-Rodríguez, 2015; Brassea-Pérez et al., 2019). Sin embargo, estos estudios sólo cubren pequeñas ventanas temporales y otros aspectos de su ecología trófica, así como la caracterización de sus hábitos alimentarios a escalas temporales y espaciales más amplios, siguen siendo limitados.

Estudiar la dieta de los mamíferos marinos a grandes escalas temporales y espaciales representa un enorme desafío por la complejidad de su nicho ecológico. Una herramienta que en últimos años ha mostrado ser poderosa para la reconstrucción de la dieta de estas especies es la del análisis de isótopos estables (AIE) (Michener y Kaufman, 2008; Newsome et al., 2010). El AIE proporciona información sobre presas que ya han sido asimiladas a diferentes escalas de tiempo, dependiendo del tejido seleccionado para su análisis (Hobson y Clark, 1992a; Hobson y Clark, 1992b; Bearhop et al., 2002). Tejidos con una tasa metabólica alta como la sangre, tienen tiempos de integración más cortos, mientras que tejidos con una tasa metabólica más lenta reflejarán información de una ventana temporal más grande, correspondiente al alimento asimilado en el momento de la formación del tejido. De ahí que el pelo proporciona

información de meses y los huesos de hasta años (Hobson et al., 1997; Kurle, 2002; Aurióles-Gamboa et al., 2006; Porras-Peters et al., 2008; Newsome et al., 2010).

La composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) proporciona información sobre las áreas de alimentación de los depredadores y puede emplearse para determinar fuentes primarias de los productores en una red trófica (Cherel y Hobson, 2007; Newsome et al., 2010). Esto se basa en las diferencias en el fraccionamiento isotópico debido a las rutas fotosintéticas específicas del taxón, las variaciones en la composición isotópica del carbono inorgánico causadas por procesos geoquímicos y a las diferencias entre los productores pelágicos y bentónicos (France, 1995; Hobson et al., 1997). La composición isotópica de las fuentes de carbono en la base de la red alimentaria tienden a mostrar un gradiente latitudinal como en el océano (Cherel y Hobson, 2007; Kopp et al., 2015). Al respecto, en latitudes bajas se presentan valores más altos y en latitudes altas valores más bajos; así como se presentan valores más bajos en zonas oceánicas/pelágicas (más negativos, p.e. -20‰) y valores más altos en las zonas costeras/bentónicas (menos negativos, p.e. -8‰) (Minagawa y Wada, 1984; France, 1995; Graham et al., 2010).

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ son un indicador de la posición trófica, debido al predecible enriquecimiento de 2.5-3.4 ‰ en cada nivel trófico desde la base de la cadena hasta depredadores tope (Minagawa y Wada, 1984; Hobson y Welch, 1992; Vanderklift y Ponsard, 2003). La discriminación isotópica consumidor-presa varía debido a la fisiología animal de cada individuo, la ruta metabólica de cada componente de la dieta, de tejido a tejido, y a la calidad nutricional de la dieta (Gannes et al., 1998; Aurióles-Gamboa et al., 2009).

Por otra parte, también existe una variación regional en los $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en la base de la red alimentaria que influencia los valores isotópicos de los depredadores. Esta variación se debe a varios factores, como los tipos predominantes de productores primarios, a los niveles de nutrientes y luz, a la intensidad de las surgencias que resulta en el transporte consecuente de carbono inorgánico y nitrógeno, y a la magnitud de los aportes de carbono y nitrógeno fluviales, atmosféricos o antropogénicos (France, 1995; Altabet et al., 1999; Graham et al., 2010).

En el noreste del Océano Pacífico, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en la base de la red alimentaria se han correlacionado negativamente con la latitud (Hobson et al., 1997; Altabet et al., 1999; Burton y Koch, 1999; Takai et al., 2000; Aurióles-Gamboa et al., 2006). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del nitrato residual tienden a enriquecerse en ^{15}N cerca de los trópicos debido a las extensas regiones de las zonas de desnitrificación asociadas a las zonas mínimas de oxígeno (MOZ) (Wada y Hattori, 1990; Altabet et al., 1999; McMahon

KW et al., 2013). Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en la base de la red alimentaria generalmente están reducidos en ^{13}C en latitudes más altas debido a la menor temperatura de la superficie del mar, la cual incrementa la solubilidad de CO_2 (empobrecido en ^{12}C) en el agua de mar, en contraste con lo que se observa la encontrada en latitudes más bajas (Goericke y Fry, 1994; Graham et al., 2010), aunado a las tasas fotosintéticas bajas limitadas por la luz (Bearhop et al., 2002).

El SIA de carbono y nitrógeno se ha utilizado ampliamente para caracterizar las áreas de alimentación, patrones de movimiento, migración, residencia y estructura de la red alimentaria de una variedad de mamíferos marinos. En el noreste del Océano Pacífico, se han utilizado con éxito para conocer las áreas preferentes de alimentación, relaciones tróficas y amplitud de nicho trófico de varias especies de pinnípedos, como la foca de puerto, el lobo marino de Steller (*Eumetopias jubatus*), el lobo marino del norte (*Callorhinus ursinus*), el lobo marino de California (*Zalophus californianus*), la foca elefante del norte (*Mirounga angustirostris*) y el lobo fino de Guadalupe (Smith et al., 1996; Burton y Koch, 1999; Aurióles-Gamboa et al., 2006; Newsome et al., 2010; Amador-Capitanachi et al., 2017).

El concepto de “nicho” en ecología se ha definido como un hipervolumen en el espacio con n-dimensiones, en el que el comportamiento de alimentación de un organismo puede representarse en ejes ambientales y bionómicos (Hutchinson, 1978). Por lo tanto, el nicho isotópico puede proporcionar una métrica cuantitativa para representar el nicho trófico (Das et al., 2003; Cherel y Hobson, 2007; Layman et al., 2007; Newsome et al., 2007).

Un aspecto importante en el SIA es la selección del tejido, la cual debe considerar el período de integración de la composición isotópica durante la formación del mismo (Newsome et al., 2010). Al respecto, los SIA en tejidos colectados en crías de pinnípedos han reportado ser buenos indicadores de los hábitos alimentarios de las madres; además, se ha observado que el enriquecimiento isotópico entre las madres y sus crías es similar al observado en una relación depredador-presa (Aurióles-Gamboa et al., 2006; Porras-Peters et al., 2008; Elorriaga-Verplancken et al., 2013b). En el caso de las crías de foca de puerto, durante la gestación les crece un primer pelo, también llamado lanugo, el cual mudan antes de nacer (Stutz, 1966; Stutz, 1967; Cottrell et al., 2002) y durante el séptimo mes también desarrollan su pelo verdadero, el cual continúa creciendo hasta la última etapa de gestación (Odell, 1972). Este pelo, una vez biosintetizado, lo mudan hasta al año, es decir, una vez que nacen, este pelo no les continúa ni producen pelo nuevo (Ling y Thomas, 1967; Stutz, 1967; Oftedal et al., 1991). Por lo tanto, el pelo de las crías de foca de puerto refleja los hábitos alimentarios de su madre durante un período de tiempo equivalente al invierno (diciembre a marzo), proporcionando información de una ventana temporal relativa a los últimos

meses de gestación (cuatro meses antes del nacimiento). Otra de las razones importantes de trabajar con crías y no con hembras adultas se debe a la facilidad de captura y manipulación, lo que proporciona la oportunidad de obtener un tamaño de muestra suficientemente grande para permitir pruebas estadísticas robustas.

2.2 Hipótesis

1. Las variaciones en los valores del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ analizadas en el pelo de las crías de foca de puerto del Pacífico en colonias de México permite conocer las áreas preferentes de alimentación y nivel trófico de las madres; así como identificar procesos biogeoquímicos y oceanográficos locales característicos de cada sitio estudiado.
2. La variabilidad geográfica (latitud y proximidad a la costa) influye en los valores del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de la foca de puerto del Pacífico. Valores más altos del $\delta^{15}\text{N}$ se presentan en las colonias sureñas en un gradiente latitudinal decreciente hacia el norte debido al enriquecimiento de la línea base de la red trófica en la región. Las focas de las colonias más cercanas a la costa presentan valores más altos del $\delta^{13}\text{C}$ debido a su cercanía a fuentes de carbono en esta región.
3. Valores más altos en el $\delta^{13}\text{C}$ se presentan en las colonias con una dieta basada en presas principalmente de hábitat bentónico.
4. La amplitud de nicho isotópico se relaciona con el tipo de especies presas que conforman la dieta de la foca de puerto del Pacífico, y el traslape isotópico con el número de especies presa compartidas entre cada colonia así como con la cercanía geográfica entre colonias.
5. La foca de puerto del Pacífico es un consumidor especialista, lo cual será reflejado por su baja variabilidad en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, y a su pequeña amplitud del nicho isotópico.

2.3. Objetivos

2.3.1 General

El objetivo de este capítulo fue conocer los hábitos alimentarios de las hembras adultas de foca de puerto del Pacífico durante la temporada reproductiva 2015 en cinco sitios representativos de su distribución en México mediante el análisis del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en pelo de crías.

2.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar si los cinco sitios de estudio (Islas Todos Santos, San Jerónimo, Natividad y San Roque y el Estero de Punta Banda) fueron diferentes con base en los valores del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en pelo de las crías de foca de puerto.
2. Probar si la variabilidad geográfica (latitud y proximidad a la costa) cambia o varía los valores del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de la foca de puerto en cada uno de los sitios de estudio.
3. Relacionar los valores del $\delta^{13}\text{C}$ con la preferencia del área alimentaria utilizada por la foca de puerto (bentónico/pelágico) a través de la exploración de su dieta (especies presa).
4. Determinar la amplitud y traslape del nicho trófico en cada sitio de estudio a través de las métricas de nicho isotópico (SEA_c y AT).
5. Explorar la relación entre la dieta de la foca de puerto del Pacífico con SEA_c y AT, para conocer la influencia de las especies presas en la variación isotópica de la foca de puerto.
6. Definir el grado de especialización trófica de la foca de puerto del Pacífico con base en sus valores del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$.

2.5 Metodología

2.5.1 Procesamiento de las muestras

Después del lavado en el que se removieron residuos de sal y arena, las muestras fueron colocadas en un horno a 60° C por 12 h para eliminar el exceso de humedad. Posteriormente, en una campana de flujo laminar para evitar contaminación cada muestra fue homogenizada en un mortero de ágata hasta la obtención de un polvo fino, del cual se colocaron de 0.5 ± 0.05 mg de peso seco en micro-cápsulas de estaño selladas (5x9 mm) para su posterior análisis isotópico.

2.5.2 Análisis de laboratorio de las muestras

Las composiciones isotópicas de carbono y nitrógeno en el pelo se determinaron utilizando un espectrómetro de masas de flujo continuo (Delta plus Advantage, Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemania), acoplado a un analizador de combustión elemental (modelo 4010 ECS, Costech Analytical Technologies, California, E.U.A.) en el Laboratorio de Isótopos Estables del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.

Para medir concentraciones de isótopos estables de carbono y nitrógeno a partir de muestras orgánicas de tejido, éstas se convierten a forma gaseosa por combustión. Este gas es introducido al espectrómetro de masas donde es ionizado y sus moléculas separadas de acuerdo a su masa. La proporción de masa/carga es medida de acuerdo a la proporción (δ) de isótopos pesados (p. e. ^{15}N) y ligeros (p. e. ^{14}N) de la muestra. Estas razones isotópicas generadas por las muestras, se comparan con las razones de los gases estándares de trabajo, los cuales son inyectados directamente al espectrómetro de masas. El sulfato de amonio es utilizado como estándar para la calibración de la señal isotópica de nitrógeno y la sacarosa para el carbono. Los estándares de trabajo son calibrados periódicamente contra los estándares internacionales, los cuales son el N_2 ó $\text{N}_{\text{atmosférico}}$ ($\delta^{15}\text{N} = 0.004\text{‰}$) para el nitrógeno y el carbonato de calcio conocido como Pee Dee Belemnita (PDB) ($\delta^{13}\text{C} = 0.011\text{‰}$) para el carbono.

Las proporciones isotópicas resultantes de cada muestra se convierten y reportan en valores convencionales delta (δ), en ‰, entre el contenido de ^{15}N ó ^{13}C de la muestra y la del estándar, de acuerdo con la ecuación (DeNiro y Epstein, 1978):

$$\delta x = \left[\left(\frac{R_{muestra}}{R_{estandar}} \right) - 1 \right] \times 1000 \quad (1)$$

$R_{muestra}$ es la proporción de los isótopos pesados sobre los isótopos ligeros ($^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ ó $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$) de la muestra.

$R_{estandar}$ es la proporción estándar de material que es aceptada internacionalmente, la cual es específica y diferente para cada isótopo analizado.

Esta estandarización en el método de análisis que asegura que todos los datos entre los diferentes estudios y laboratorios sean comparables. Además, en el presente estudio se incluyeron estándares secundarios, el ácido glutámico ($\delta^{13}\text{C}$: -26.39 ‰ y $\delta^{15}\text{N}$: -4.52 ‰), la acetanilida ($\delta^{13}\text{C}$: -30.37 ‰ y $\delta^{15}\text{N}$: -0.83), el lanugo de las crías de foca ($\delta^{13}\text{C}$: -16.04 ‰ y $\delta^{15}\text{N}$: 15.32 ‰) y PF01 ($\delta^{13}\text{C}$: -15.94 ‰ y $\delta^{15}\text{N}$: 14.64 ‰), los cuales se midieron rutinariamente durante el análisis de las muestras, con un alto nivel de precisión para todos los estándares. El error analítico dentro de las corridas de mediciones isotópicas fue de $\pm 0.2\%$ para $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$.

2.5.3 Análisis estadístico

2.5.3.1 Variación inter-individual

Las pruebas estadísticas se aplicaron utilizando el software Statistica (STATSOFT, 2015), mientras que las crías se agruparon por sitio de muestreo. Para probar la normalidad para los valores del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ se utilizó la prueba de Shapiro-Wilks y para la homoscedasticidad, se utilizó la prueba de Levene. Las diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre los cinco sitios de muestreo se evaluaron mediante el análisis de varianza unidireccional (ANOVA). Se utilizó el análisis de Kruskal-Wallis para los valores de $\delta^{15}\text{N}$, debido a que los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, por lo que se aplicaron estadísticas no paramétricas. Cuando se encontraron diferencias significativas en $\delta^{13}\text{C}$ entre los sitios de muestreo, se aplicó la prueba *a posteriori* de Tukey, donde el valor de $p < 0.05$ se consideró

significativo, mientras que para los valores de $\delta^{15}\text{N}$ se utilizó como prueba *a posteriori* la comparación múltiple de rangos medios.

2.5.3.2 Nicho trófico

En los últimos años el concepto de nicho ecológico ha experimentado novedosos cambios (Newsome et al., 2007). Este concepto puede proporcionar una gran variedad de información, que parte de la idea de Hutchinson, quien definió un nicho ecológico como un hipervolumen con n dimensiones, donde los ejes escenopoéticos representan los componentes ambientales y los ejes bionómicos se refieren principalmente a los componentes tróficos del espacio del nicho (Hutchinson, 1978). En años recientes la ubicación de los ejes se puede cuantificar utilizando las proporciones de isótopos estables (Bearhop et al., 2004); lo que ha originado el concepto de “nicho isotópico” (Newsome et al., 2007). Lo anterior debido a que los valores medidos en los tejidos de los consumidores, en nuestro caso el pelo de la foca de puerto del Pacífico, están estrechamente vinculados a los de su dieta.

De esta manera, la relación en el nitrógeno entre su isótopo pesado con el ligero ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) aumenta de forma gradual en cada nivel trófico y por lo tanto es análogo a un eje bionómico (DeNiro y Epstein, 1981; Minagawa y Wada, 1984). Por otra parte, el isótopo estable del carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), refleja las fuentes de carbono primarias dentro de una red alimentaria que varían notablemente, por ejemplo entre un ambiente costero a uno oceánico (DeNiro y Epstein, 1978; Fry, 1988; Newsome et al., 2010). Por lo tanto, pueden ser considerados como los dos ejes: bionómicos y escenopoéticos.

Para determinar la amplitud de nicho se consideraron los criterios de Bearhop et al. (2004) y (Newsome et al., 2007) quienes mencionan que puede ser medida con el tamaño de la varianza de los datos isotópicos, por lo que se convierte en una métrica del grado de especialización trófica, donde valores $< 1\%$ indican una dieta especialista, y valores $> 1\%$ una dieta generalista (Jaeger et al., 2009).

Aunado a lo anterior, para determinar la amplitud del nicho isotópico se calculó el área total (AT) de polígonos convexos (*convex hulls*), los cuales se crean uniendo todos los puntos extremos de la distribución de los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (Layman et al., 2007); convirtiéndolos en una medida directa del área del nicho isotópico abarcado por cada colonia. Sin embargo, como el área los polígonos convexos es sensible al tamaño de muestra (Layman et al., 2007; Jackson et al., 2011), para fines comparativos,

también se calcularon las elipses isotópicas utilizando el método Bayesiano SIBER (por sus siglas en inglés, *Stable Isotope Bayesian Ellipses in R*,) (R, 2007; Jackson et al., 2011), que fue desarrollado para el Paquete R (R, 2007) y actualizado en febrero de 2019 (Jackson, 2019). Este método proporciona una estimación sólida para comparar la amplitud del nicho isotópico basada en el cálculo de áreas de elipses estándar (SEA) (Jackson et al., 2011). Para su creación se utilizan una serie de permutaciones de la simulación de Monte Carlo, excluyendo los puntos extremos; además, estas métricas no son tan sensibles a tamaños de muestra limitados, como es el caso del modelo de los polígonos convexos (Jackson et al., 2011).

SIBER se utiliza con frecuencia en estudios ecológicos con tamaños de muestra $n < 50$ (Jackson et al., 2011). Además, las áreas de las elipses estándar se corrigieron de acuerdo al tamaño de muestra (SEA_c) y se calcularon para anular el sesgo potencial debido a las diferencias en el tamaño de la muestra entre colonias, por lo que las SEA_c son el equivalente a la desviación estándar en casos univariados, y además cuentan con una menor influencia de los valores extremos como pasa al utilizar los polígonos convexos (Jackson et al., 2011). Las SEA_c contienen aproximadamente el 40% de los datos, con un intervalo de credibilidad del 95%, mientras que las diferencias de SEA_c entre colonias se probaron estadísticamente mediante la comparación de las distribuciones de probabilidad de SEA_c para cada colonia generada, en una salida de 10^6 remuestreos. El traslape entre dos colonias se calculó comparando su SEA_c en $\% ^2$, de acuerdo con la siguiente ecuación (Jackson et al., 2011).

$$sobrelope = \frac{sobrelope(A,B)}{\text{ÁreatotaldeA}} \quad (2)$$

Además también se siguieron las métricas propuestas por Layman et al. (2007) ya que ayudan a mejorar el entendimiento del nicho isotópico:

1. El rango de $\delta^{15}N$, el cual provee información de la posición trófica.
2. El rango de $\delta^{13}C$, el cual proporciona una estimación de la diversidad de fuentes base.
3. El área del polígono convexo (AT, Área Total), el cual es un indicador de la amplitud del nicho.

2.5.3.3 Variación geográfica

Para probar si existieron diferencias geográficas en los valores isotópicos, se correlacionaron la distancia a la costa, así como la latitud y la longitud (es decir, el gradiente de este a oeste) de cada colonia con los valores medios $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las crías en cada colonia. La distancia o proximidad de cada colonia a la costa se calculó utilizando la ecuación de Haversine:

$$a = \sin^2 \left(\frac{\Delta\phi}{2} \right) + \cos\phi_1 \cdot \cos\phi_2 \cdot \sin^2 \left(\frac{\Delta\lambda}{2} \right)$$

$$c = 2 \cdot \text{atan2} (\sqrt{a}, \sqrt{1-a})$$

$$d = R \cdot c$$

(3)

Donde:

ϕ = Latitud

λ = Longitud

R = Radio de la Tierra (6,371 km)

d = Distancia entre dos puntos

2.5.3.4 Relación con la dieta

Los valores isotópicos reflejan la composición de la dieta asimilada, pero no necesariamente la dieta ingerida (Phillips, 2012). Por lo tanto, la amplitud de nicho isotópico puede conducir a la subestimación del nicho de la dieta. Por el contrario, la riqueza de especies puede no reflejar el consumo real de presas individuales. El espectro trófico de la dieta de la foca de puerto se correlacionó en función

de las estimaciones de riqueza de especies derivadas de la identificación de las partes duras de peces y cefalópodos encontrados en las excretas (Durazo-Rodríguez, 2015), las cuales se referenciaron con las amplitud de nicho isotópico estimado (es decir, el número de presa especies para cada colonia vs. SEA_c y TA). Los datos de riqueza de especies registrados durante la temporada de cría se consideraron para ITS, ISJ, IN, e ISR (Durazo-Rodríguez, 2015), y a pesar de existir datos para EPB, éstos se excluyeron debido a que se recolectaron durante la temporada de muda y se sabe que la dieta de las focas tiende a variar de una temporada a otra, incluso de mes a mes (Alamán-de-Régules, 2014). Las especies presa identificadas a partir de partes duras también se graficaron en términos de su nivel trófico, Índice de Importancia de Presas (IIMPi) (Durazo-Rodríguez, 2015) y su tipo de hábitat (demersal, batidemersal, bentónico, bentopelágico o pelágico) (Froese y Pauly, 2019).

2.6 Resultados

2.6.1. Variación inter-individual

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del pelo de foca del Pacífico oscilaron entre 16.8 y 21.5 ‰ (media \pm DE: 19.0 \pm 0.7 ‰; Tabla 1, Figura 4). El sitio de muestreo ISR registró el valor medio más alto, mientras que ITS registró el valor más bajo. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ oscilaron entre -18.3 y -13.6 ‰ (media \pm DE: -15.9 \pm 0.8 ‰). El rango más amplio de valores de $\delta^{13}\text{C}$ fue exhibido por las crías muestreadas en ITS (-17.1 a -13.6 ‰), mientras que los valores con un rango más amplio en el $\delta^{15}\text{N}$ se encontraron en la colonia ISR (19.0 a 21.6 ‰). Los individuos muestreados en EPB mostraron el rango más limitado de valores isotópicos para ambos elementos. Los individuos de IN mostraron los valores más bajos en el $\delta^{13}\text{C}$, en contraste con EPB, donde se encontraron los valores más altos en este elemento.

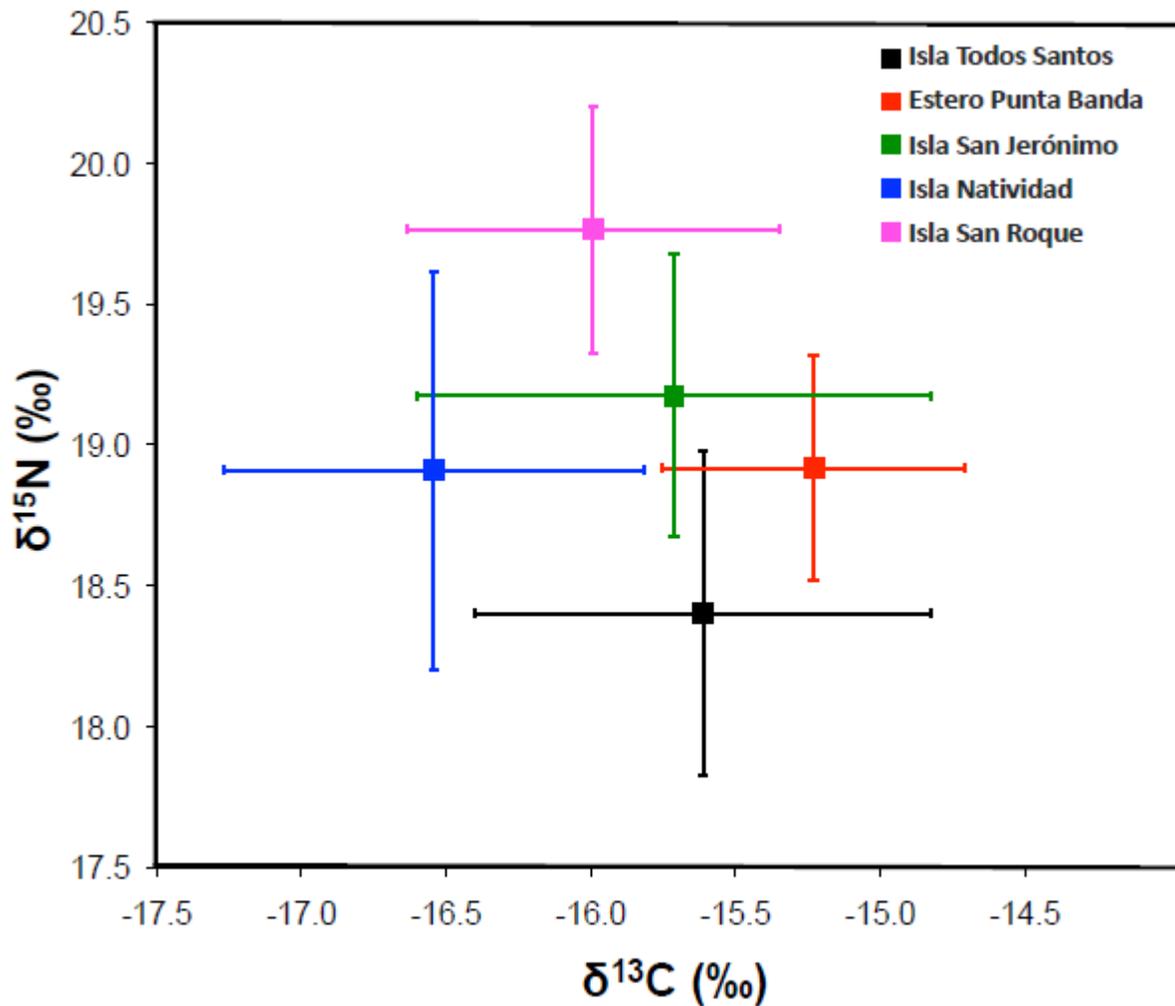


Figura 4. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm DE) de pelo de crías de foca de puerto del Pacífico en diferentes sitios a lo largo de la costa e islas al oeste de la Península de Baja California (ITS = Isla Todos Santos, EPB = Estero de Punta Banda, ISJ = Isla San Jerónimo, IN = Isla Natividad, y ISR = Isla San Roque).

Tabla 1. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio \pm DE) de pelo de crías de foca de puerto del Pacífico muestreadas en cinco sitios a lo largo de la costa occidental de la Península de Baja California, ubicación geográfica de cada sitio y su distancia a la costa.

Sitios de muestreo	Distancia a la costa (km)	n	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) promedio \pm DS	$\delta^{15}\text{N}$ (‰) promedio \pm DS
Isla Todos Santos (31°47' 59" N, 116°47' 20" W)	16.46	39	-15.6 \pm 0.8	18.40 \pm 0.6
Estero de Punta Banda (31° 42' 47" N, 116° 40' W)	0.29	12	-15.23 \pm 0.5	18.92 \pm 0.4
Isla San Jerónimo (29°47' 33" N, 115°47'29" W)	9.44	29	-15.71 \pm 0.9	19.17 \pm 0.5
Isla Natividad (27°52' 55" N, 115°11'33")	9.80	27	-16.54 \pm 0.7	18.91 \pm 0.7
Isla San Roque (27°8' 48 " N, 114°22'40" W)	1.8	31	-15.99 \pm 0.6	19.76 \pm 0.4

En general, se encontraron diferencias significativas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ para las muestras de pelo de crías colectadas en los cinco sitios de estudio (ANOVA, $F_{4, 133} = 9.321$, $p < 0.001$; Figura 5). Para los valores de $\delta^{13}\text{C}$, IN fue estadísticamente diferente de todos los demás sitios, mientras que ISR fue estadísticamente diferente de EPB y IN (prueba Tukey, $p < 0.05$). También existieron diferencias significativas en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre las colonias (KW, $H_{4, 138} = 68,795$, $p < 0.001$; Figura 2), mientras que se encontraron diferencias estadísticas entre ITS en comparación con ISJ, IN y ISR. La ISR fue significativamente diferente de todos los demás sitios de estudio (prueba no paramétrica *a posteriori*, Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de las pruebas *a posteriori* del $\delta^{13}\text{C}$ de las crías de foca del Pacífico en los cinco sitios de muestreo a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (ITS = Isla Todos Santos, EPB = Estero de Punta Banda, SJI = Isla San Jerónimo, IN = Isla Natividad, y ISR = Isla San Roque).

Sitios de muestreo	Prueba <i>a posteriori</i> (valor p)			
	ITS	EPB	ISJ	IN
EPB	0.54			
ISJ	<.01	1.00		
IN	0.03	1.00	1.00	
ISR	<0.01	<.01	<.01	<.01

2.6.2 Nicho trófico

La variación en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en los sitios de muestreo fue baja (<1 ‰), tanto para $\delta^{13}\text{C}$ (ITS: ± 0.6 , EPB: ± 0.3 , ISJ: ± 0.8 , IN: ± 0.5 , e ISR: ± 0.4 en ‰) y para $\delta^{15}\text{N}$ (ITS: ± 0.3 , EPB: ± 0.3 , ISJ: ± 0.3 , IN: ± 0.5 e ISR: ± 0.3 ‰). Las áreas totales de los polígonos convexos (AT) fueron mayores para ITS e IN (5.1 y 5.9, respectivamente), mientras que EPB presentó el AT más pequeña (1) (Figura 5). El mayor traslape en el espacio isotópico fue entre ISJ e IN (3.0), seguido de IN e ITS (2.7); mientras que el traslape más pequeño fue entre ISR y EPB (0.1) (Tabla 3).

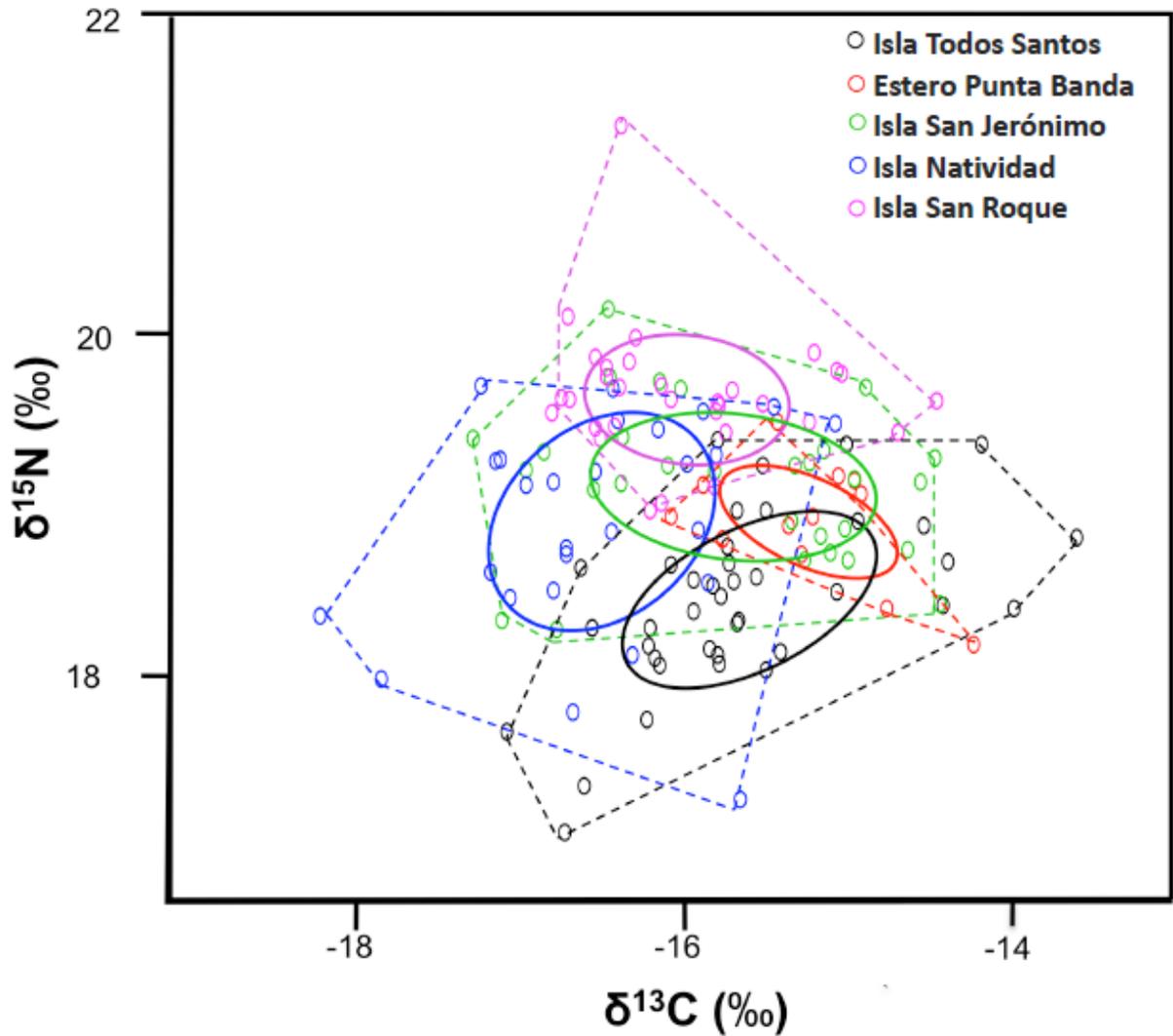


Figura 5. Distribución de los valores $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ del pelo de cría de focas del puerto del Pacífico en los cinco sitios de muestreo a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California. Las líneas continuas representan las elipses estándar corregidas para el tamaño de muestra (SEAc) y las líneas discontinuas representan las áreas de los polígonos convexos.

Tabla 3. Áreas totales (AT) y traslape de los polígono convexos calculados con base en los valores del $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ del pelo de cría de focas de puerto del Pacífico muestreadas en cinco sitios a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (ITS = Isla Todos Santos, EPB = Estero de Punta Banda, ISJ = Isla San Jerónimo, IN = Isla Natividad, e ISR = Isla San Roque).

Sitios de muestreo	AT de polígonos convexos (‰ ²)	Área traslapada (‰ ²)			
		ITS	EPB	ISJ	IN
ITS	5.14				
EPB	1.00	0.98			
ISJ	4.70	2.24	0.95		
IN	5.86	2.66	0.51	3.00	
ISR	3.21	0.23	0.14	1.67	0.87

Con base en los valores de SEA_c , IN presentó la mayor amplitud trófica (1.6) y EPB la más pequeña (0.6) (Figura 6, Tabla 4). Se encontró una gran superposición (0.5) entre ISJ e IN, seguido de EPB e ISJ (0.5), y entre ITS y EPB (0.3). El traslape trófico más pequeño fue entre ITS e ISR.

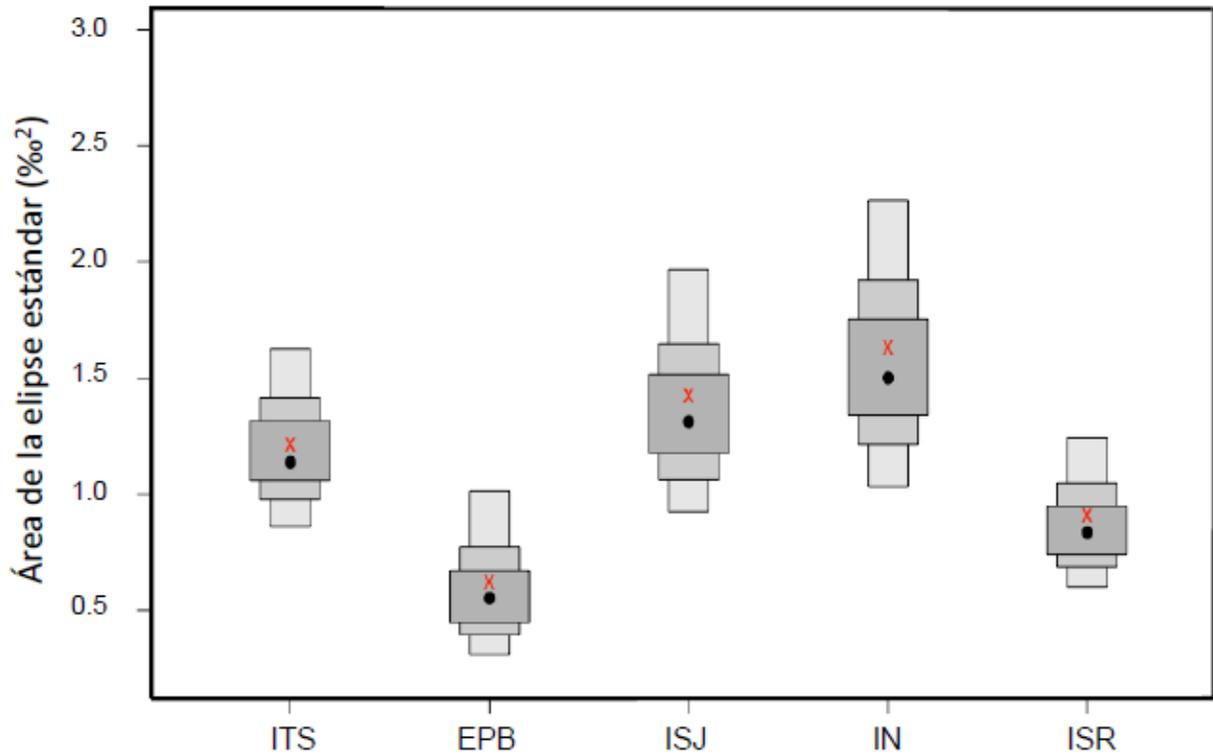


Figura 6. Densidad SIBER, con intervalos de credibilidad (50% cajas de color gris oscuro, 75% cajas de color gris medio, 100% cajas de color gris claro), para las elipses bayesianas generadas (SEA - puntos negros) para el datos isotópicos de las crías de foca de puerto del Pacífico superpuestos con el tamaño de la muestra corregido por la incertidumbre en las estimaciones (SEA_c - cruces rojas). La distribución en las estimaciones del área de la elipse estándar ($\%²$) se basa en 10^6 corridas de remuestreo.

Tabla 4. Áreas y traslapes de las áreas de las elipses estandares corregidas para el tamaño de muestra (SEA_c) y calculadas para los $\delta^{15}N$ y $\delta^{13}C$ de las crías de foca de puerto del Pacífico en los cinco sitios de muestreo a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (ITS = Todos Isla Santos, EPB = Estero de Punta Banda, ISJ = Isla San Jerónimo, IN = Isla Natividad, e ISR = Isla San Roque).

Sitios de muestreo	SEA_c ($\%²$)	Traslape ($\%²$)			
		ITS	EPB	ISJ	IN
ITS	1.22				
EPB	0.62	0.29			
SJI	1.42	0.21	0.45		
IN	1.64	0.05	0	0.53	
ISR	0.91	<0.01	<0.01	0.29	0.12

2.6.3 Variación geográfica

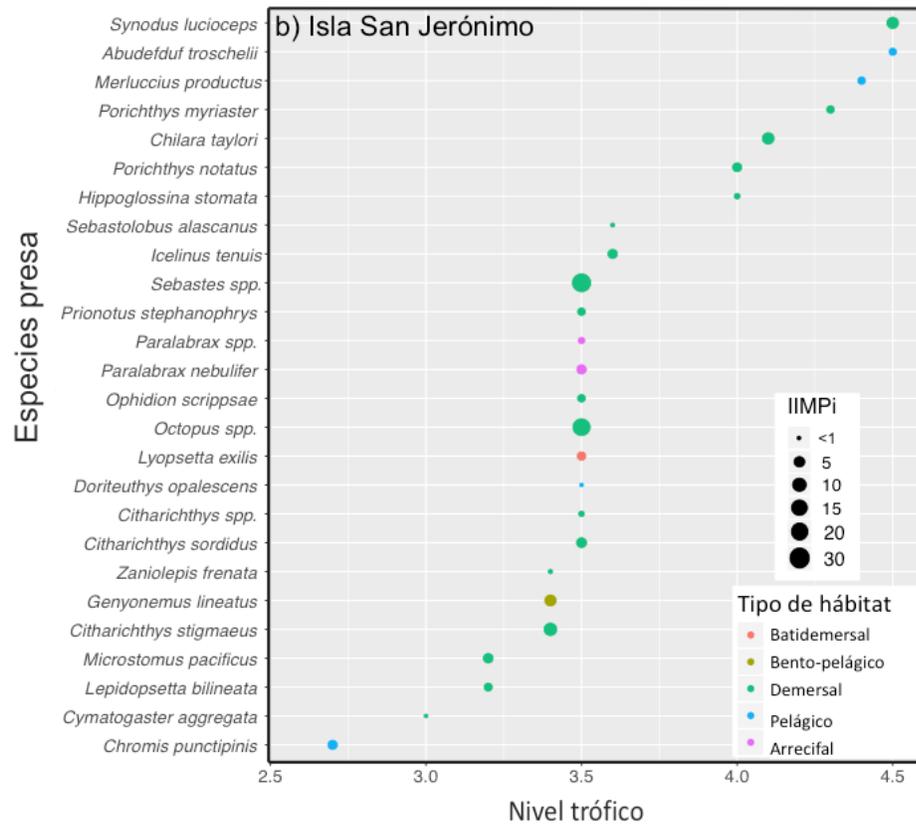
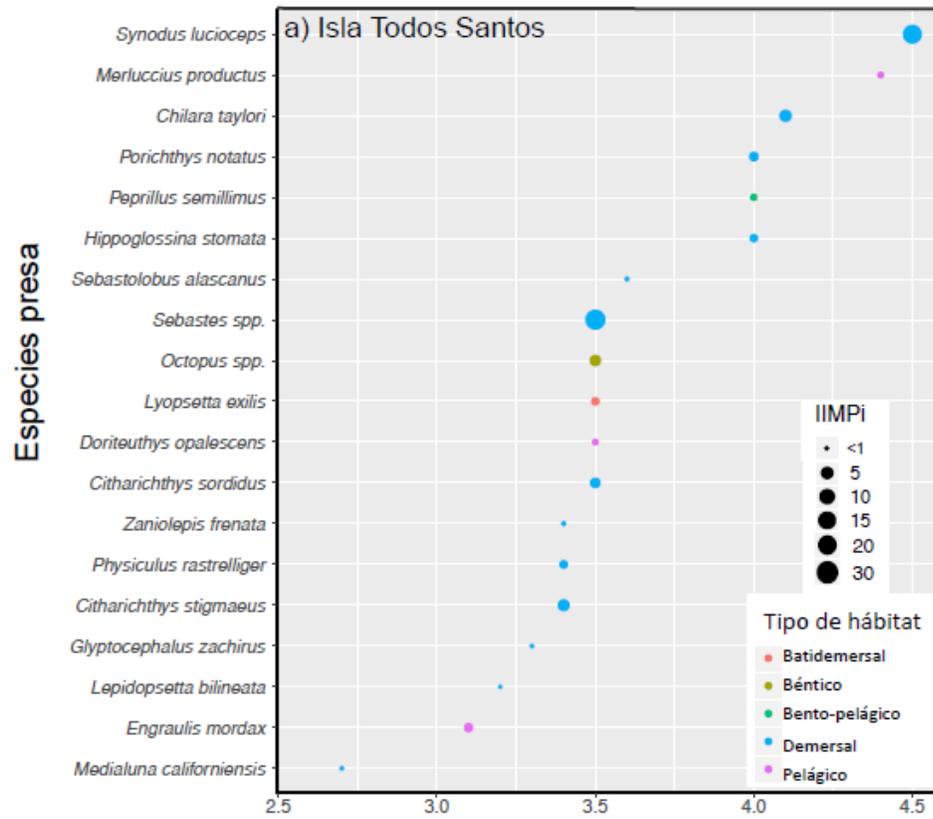
No se encontró correlación entre la proximidad a la costa y los valores del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de pelo de las crías de foca de puerto del Pacífico en los sitios de estudio. Sin embargo, se observó una alta varianza explicada ($r = 0.58$, $p = 0.081$) para los valores del $\delta^{13}\text{C}$, una correlación positiva y significativa entre los valores del $\delta^{15}\text{N}$ y la longitud ($r = 0.78$, $p = 0.046$), y una tendencia de enriquecimiento en ^{15}N hacia el sur, aunque no fue significativo ($r = 0.57$, $p < 0.087$). En contraste, las correlaciones entre los valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y la proximidad a la costa, así como la latitud y la longitud, no fueron significativas.

2.6.4 Relación con la dieta

No existieron correlaciones significativas entre las estimaciones de las SEA_c y TA en los sitios estudio con la riqueza de especies identificadas por restos duros previamente (Durazo-Rodríguez, 2015) (SEA_c : $r = -0.40$, $p = 0.75$; AT: $r = -0.80$, $p = 0.33$; Tabla 5). Las islas San Jerónimo y San Roque, las cuales presentaron mayor riqueza de especies (26 y 20 taxones, respectivamente, Figs. 7b y d), no presentaron correlación positiva con las AT y SEA_c como se esperaba. Además, tampoco se encontró una correlación significativa entre el número de especies de presas compartidas entre los sitios y sus áreas de traslape o superposición ($r = 0.21$, $p = 0.689$, Fig. 7, Tabla 6).

Tabla 5. Riqueza de especies (número de especies presa) en cuatro colonias con su correspondiente área de elipse estándar (SEA_c) y Área total (AT) del polígono convexo calculadas a partir del análisis isotópico en el pelo de las crías de foca de puerto del Pacífico.

Sitios de muestreo	$\text{SEA}_c(\% \text{ } ^2)$	AT ($\% \text{ } ^2$)	Riqueza de especies
ITS	1.22	5.14	19
ISJ	1.42	4.70	26
IN	1.64	5.86	15
ISR	0.91	3.21	20



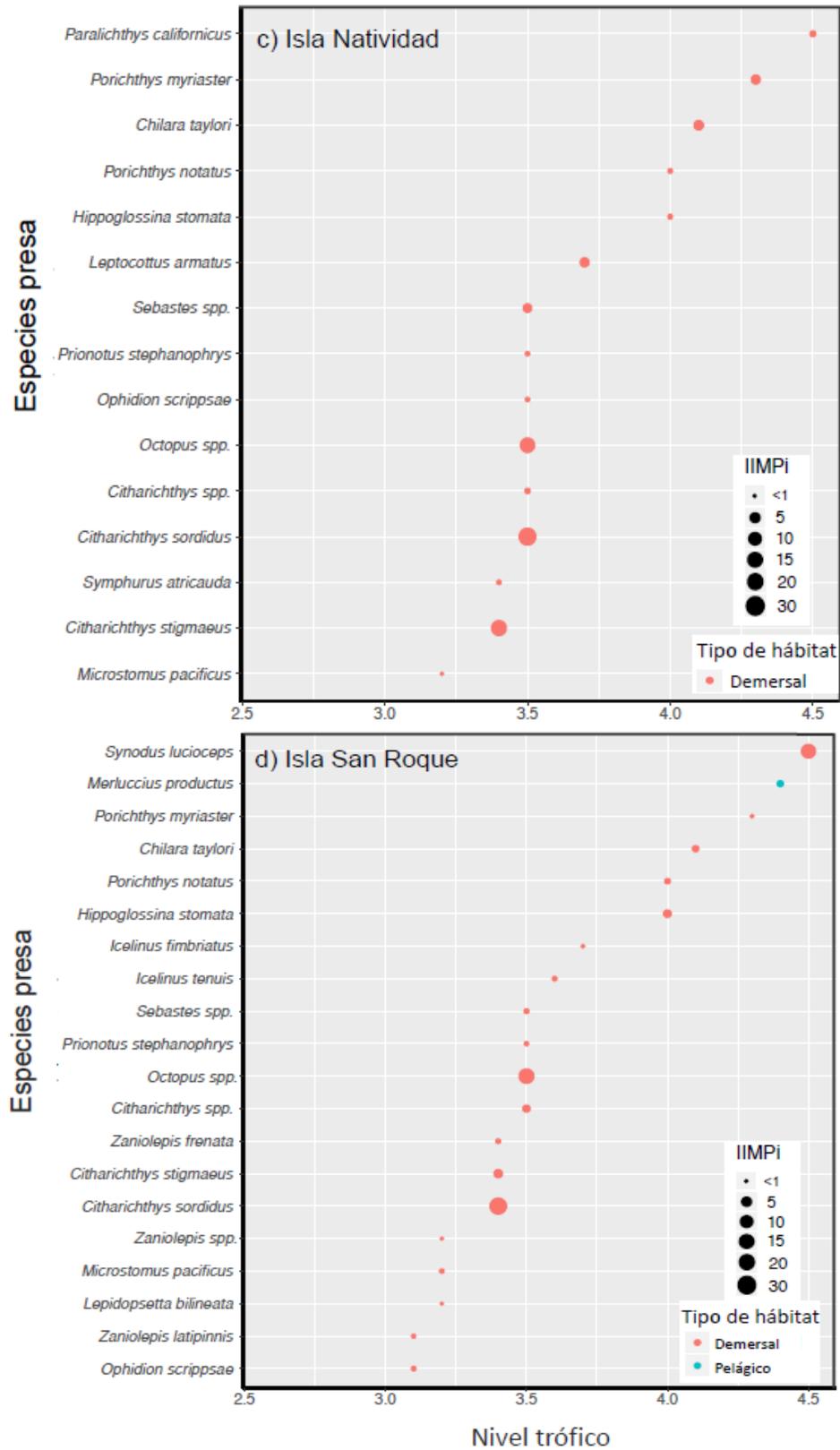


Figura 7. Especies presas de foca de puerto identificadas por análisis de restos duros en excretas (Durazo-Rodríguez, 2015), con su nivel trófico estimado (eje x), Índice de Importancia (IIMPi, varía de acuerdo al tamaño del círculo) y tipo de hábitat predominante (colores de círculos), en: a) Isla Todos Santos b) Isla San Jerónimo, c) Isla Natividad y d) Isla San Roque, en temporada reproductiva.

Tabla 6. Número de especies de presas compartidas entre los sitios de estudio, con sus áreas de traslape correspondientes (%²).

Sitios de estudio	Número de especies compartidas	Traslape de las áreas (% ²)
ITS-ISJ	14	0.21
ITS-IN	6	0.05
ITS-ISR	11	0
ISJ-IN	10	0.53
ISJ-ISR	12	0.29
IN-ISR	11	0.12

2.7. Discusión

Los factores que controlan la incorporación isotópica en el tejido deben tenerse en cuenta en los estudios de ecología trófica inferidos a través de isótopos estables. El presente estudio utilizó pelo, un tejido metabólicamente inerte que puede reflejar la composición isotópica de la presa asimilada durante su biosíntesis (Nakamura et al., 1982; Hobson, 1999). Los cambios en la dieta y/o en el medio se registran en el pelo en función del tiempo requerido que tarda en llegar a equilibrio isotópico la dieta asimilada y la formación del pelo (Hobson et al., 1996; Lesage et al., 2002). Como se explicó en la introducción de este capítulo, el pelo de cría de foca de puerto es un buen indicador de los hábitos alimentarios de la madre en una ventana temporal referente al invierno (diciembre a marzo), basado en los últimos meses de gestación de la cría en esta región de estudio (Fernandez-Martín et al., 2016).

Hasta la fecha, pocos estudios han analizado valores de isótopos estables en muestras de pelo colectadas en crías de foca de puerto pertenecientes a colonias mexicanas (Elorriaga-Verplancken et al., 2013b; Pablo-Rodríguez et al., 2015; Elorriaga-Verplancken et al., 2016). En 2013, Elorriaga-Verplancken et al. (2013b) reportó valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$ más altos para isla Natividad ($\delta^{13}\text{C}$: -15.4 ± 0.6 ‰) que los obtenidos en el presente estudio ($\delta^{13}\text{C}$: -18.3 ± 0.7 ‰). Esta discrepancia podría deberse a que los años de muestreo fueron distintos (abril de 2013 en comparación con diciembre de 2014 a febrero de 2015), lo que significa que la composición isotópica en la base de la red alimentaria pudo haber cambiado, aunque también podría deberse a que la disponibilidad de presas no fue la misma en esos años. Un fenómeno que podría explicar lo anterior, fue la anomalía denominada ola cálida del Pacífico Norte, que comenzó en el Golfo de Alaska y posteriormente se extendió al sur de Baja California y Pacífico Central Mexicano (Cavole et al., 2016). Inició en el invierno de 2013-2014 y duró hasta el verano de 2015, causando un aumento de 4°C en la temperatura de la superficie del mar. Este evento puede haber cambiado la composición y

estructura de las redes tróficas de la región, al modificar la abundancia y distribución de los organismos y también, por lo tanto, la disponibilidad de presas de foca de puerto. En el estudio de Elorriaga-Verplancken et al. (2013b), las muestras fueron colectadas en abril de 2013, aproximadamente diez meses antes de que comenzara la anomalía del agua cálida, mientras que las muestras del presente estudio se recolectaron de enero a febrero de 2015, cuando la anomalía ya estaba bien establecida.

En cuanto a la amplitud del nicho isotópico, ésta puede considerarse una medida del grado de especialización de una especie (Martínez-del-Río et al., 2009). La baja variación en los valores de los isótopos estables de carbono y nitrógeno en el pelo de las crías (<1 ‰) sugiere que las focas hembra tienen hábitos alimentarios especialistas (Bearhop et al., 2004; Thomson et al., 2012). Estudios previos indican que las focas hembra prefieren un rango reducido de especies presa, ya que se han reportado de tres a cinco especies dominantes en su dieta (Durazo-Rodríguez, 2015).

Los resultados del presente estudio sugieren que el área total del polígono convexo más grande calculada para IN indica hábitos alimentarios generalistas o con un menor grado de especialización, en comparación con las otras colonias estudiadas. Por el contrario, EPB presentó el área de polígono convexo más pequeña, además de baja varianza y las áreas de las elipses más pequeñas, por lo que se considera a las focas de EPB con hábitos más especialistas. Este hallazgo puede deberse al alto IIMPi de tres especies de peces que se encuentran en la dieta de esa colonia: el pez lagarto de California (*Synodus lucioceps*), el pulpo Verrill (*Octopus bimaculatus*) y el calamar del mercado de California (*Dorytheutis opalescens*) (Alamán-de-Régules, 2014). A pesar de que EPB tiene una colonia de individuos que ocupan una pequeña área geográfica (Fernandez-Martín et al., 2016) se han documentado hasta 23 especies presa de ictiofauna para esta zona (Beltrán-Félix et al., 1986), y aunque se encuentra a tan sólo 20 km de distancia de ITS, las presas consumidas son diferentes en cada colonia. Alamán-de-Régules (2014), encontró que las focas de puerto de EPB parecen sólo alimentarse de especies encontradas en el estero. Aunado a lo anterior, otro factor que favorecería la especialización de los hábitos alimentarios se debe a que la región central de la Península de Baja California muestra un menor número de hábitats de peces y grupos de especies en comparación con la región norte (Allen et al., 2006), lo que podría explicar un nicho trófico más pequeño para EPB. Esta baja amplitud de nicho isotópico en la colonia EPB es de relevancia ecológica, dado que las especies con mayor grado de especialización son más sensibles a los cambios en la disponibilidad de recursos que los consumidores generalistas (McPeck, 1996; Bolnick et al., 2002; Laidre et al., 2008).

Las diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre las colonias de focas de puerto del Pacífico mexicano parecen reflejar diferentes condiciones oceanográficas locales o específicas del sitio, que son reflejo de las

variaciones isotópicas en la línea base, aunque un patrón latitudinal en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en el pelo de las crías no fue evidente. La mayor diferencia se encontró entre IN y EPB, siendo EPB el sitio más cercano a la costa e IN, aunque cerca de Punta Eugenia, fue la colonia que está más fuertemente influenciada por la Corriente de California y la Contracorriente Norecuatorial. Esta influencia oceánica es consistente con los valores más bajos de $\delta^{13}\text{C}$ encontrados en IN (Elorriaga-Verplancken et al., 2013b), que contrastan con los valores más altos de $\delta^{13}\text{C}$ encontrados en EPB, que es una laguna costera, y que recibe mayores contribuciones de las fuentes de carbono debido a la presencia de macrófitas bentónicas, quienes están enriquecidas en ^{13}C en relación con el fitoplancton (Fry y Wainright, 1991; Goericke y Fry, 1994). Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ fueron más altos en las colonias costeras, ITS y EPB, lo que probablemente sea reflejo de la presencia de presas bentónico-demersales (Payne y Selzer, 1989).

Las diferencias isotópicas en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre las colonias fueron significativas, con la excepción de ITS y EPB, que se encuentran geográficamente muy cercanas. Los valores más altos de $\delta^{15}\text{N}$ encontrados en ISR probablemente reflejan un enriquecimiento latitudinal en el ^{15}N de la línea de base con tendencia hacia el sur, causado por procesos de desnitrificación regionales presentes en el Pacífico Ecuatorial Tropical y el transporte subsuperficial de nitrato enriquecido hacia el norte por la Contracorriente de California (Sigman et al., 2005). Los altos valores del $\delta^{15}\text{N}$ de ISR, el sitio más sureño, probablemente reflejan la mayor contribución del nitrato pesado. El aumento de 1‰ en el $\delta^{15}\text{N}$ entre las colonias más extremas geográficamente, ISR y ITS, quienes muestran una diferencia en cuatro grados de latitud, es consistente con el enriquecimiento de ^{15}N que se presenta latitudinalmente y que se ha reportado en otros estudios (Kelly, 2000; Auriolles-Gamboa et al., 2009; McMahon et al., 2013).

2.7.1 Comparación isotópica entre pinnípedos

Comparar los datos isotópicos de las focas de puerto de colonias mexicanas con otras especies de pinnípedos del Pacífico noreste puede ser útil para comprender la ecología trófica de esta subespecie en el extremo sur de su distribución (Hobson et al., 1997; Hirons et al., 2001; Newsome et al., 2006; Elorriaga-Verplancken et al., 2013b; Pablo-Rodríguez et al., 2015). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados en el presente estudio ($19.0 \pm 0.7\text{‰}$) fueron bajos en comparación con los reportados previamente para los lobos marinos de California (*Zalophus Californianus*) en el Golfo de California ($21.8 \pm 0.7 \text{‰}$) (Auriolles-Gamboa et al., 2009), aunque fueron más altos que los reportados para los lobos marinos de Galápagos (*Zalophus wollebaeki*, $12.94 \pm 0.43 \text{‰}$, Tabla 7).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ para el pelo tomado de los lobos finos de Guadalupe en isla Guadalupe fueron aproximadamente 2.6 ‰ más bajos (-18.4 ± 0.4 , Tabla 4) que los valores obtenidos para los lobos marinos del Pacífico mexicano. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ (17.6 ± 1.3) y $\delta^{13}\text{C}$ (-17.2 ± 0.8) para el pelo tomado de las focas elefantes del norte (*Mirounga angustirostris*) de las islas San Benito fueron más bajos y más variables que para las focas de puerto de México (Tabla 4) (Elorriaga-Verplancken et al., 2016).

Los valores $\delta^{15}\text{N}$ comparativamente más bajos encontrados en el presente estudio en la costa oeste de la Península de Baja California revelaron diferencias entre las líneas de base de la red trófica en otros sitios, como el Golfo de California y las Islas Galápagos (Aurioles-Gamboa et al., 2009; Elorriaga-Verplancken et al., 2013a). Las diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ encontradas entre las muestras de pelo tomadas de lobos marinos de Guadalupe en Isla Guadalupe y los valores obtenidos de los lobos marinos del Pacífico mexicano probablemente ocurren porque Isla Guadalupe se encuentra en una área oceánica a 250 km de la costa de la Península y probablemente también debido a que los lobos finos de Guadalupe se alimentan principalmente de calamares, que son el reflejo de un hábitat más oceánico (Amador-Capitanachi et al., 2017).

La diferencia entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ obtenidos para las focas elefantes del norte y los encontrados en las muestras tomadas en el presente estudio puede indicar un gradiente latitudinal, ya que la foca elefante se alimenta en aguas más norteñas (norte del Golfo de Alaska) y en áreas más oceánicas o alejadas de la costa (Le Boeuf et al., 2000; Thomson et al., 2012). Las diferencias observadas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ pueden deberse tanto a la latitud como a las diferencias en dietas, ya que el elefante marino del norte se alimenta de calamares (Le Boeuf et al., 2000). Sin embargo, esta posibilidad debe considerarse con precaución, ya que en este trabajo no se analizaron los valores isotópicos en la línea de base de la red trófica. Además, a diferencia del elefante marino, la foca de puerto tiene un alto grado de fidelidad al sitio; no realiza migraciones de grandes distancias ni viajes de alimentación largos, sino que se alimenta cerca de la costa (Härkönen, 1987a; Härkönen y Harding, 2001), lo que probablemente explica los valores relativamente altos en el $\delta^{13}\text{C}$.

Tabla 7. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (promedio \pm DE) en el pelo de diferentes especies de pinnípedos del Océano Pacífico Oriental y Golfo de California.

Nombre común	Nombre científico	Edad	Año de muestreo	Sitio de muestreo	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Referencia
Lobo marino de California	<i>Zalophus Californianus</i>	Crías	2008	Golfo de California	-15.9 \pm 0.5	21.8 \pm 0.7	(Aurioles-Gamboa et al., 2009)
Lobo marino de Galápagos	<i>Zalophus wollebaeki</i>			Islas Galápagos	-14.5 \pm 0.5	13.1 \pm 0.5	(Aurioles-Gamboa et al., 2009)
Foca de puerto del Pacífico	<i>Phoca vitulina richardii</i>	Crías (2meses)	2012	Isla Natividad	-15.40 \pm 0.6	19.10 \pm 0.3	(Elorriaga-Verplancken et al., 2013b)
Lobo marino de Galápagos	<i>Zalophus wollebaeki</i>	Crías (2meses)	2009	Islas Galápagos	-16.2 \pm 0.3	12.94 \pm 0.4	(Páez-Rosas y Aurioles-Gamboa, 2014)
				Cabo Douglas	-15.2 \pm 0.5	13.12 \pm 0.3	
				Caamaño	-16.42 \pm 0.2	12.92 \pm 0.6	
				Post Office	-16.59 \pm 0.3	12.79 \pm 0.4	
				Malecon	-16.62 \pm 0.3	12.96 \pm 0.5	
Foca de puerto del Pacífico	<i>Phoca vitulina richardii</i>	Crías (1-2 meses)	2013	Isla Natividad	-15.4 \pm 0.6	19.1 \pm 0.3	(Elorriaga-Verplancken et al., 2016)
Elefante marino del norte	<i>Mirounga angustirostris</i>	Crías (1-2 meses)		Islas San Benito	-17.2 \pm 0.8	17.6 \pm 1.3	(Elorriaga-Verplancken et al., 2016)
Lobo fino de Guadalupe	<i>Arctocephalus philippii townsendi</i>	Crías (1 mes)	Julio 2013	Isla Guadalupe	-17.6 \pm 0.3	18.4 \pm 0.4	(Amador-Capitanachi et al., 2017)
				Islas San Benito	-17.1 \pm 0.4	18.8 \pm 0.4	

Lo anterior es particularmente cierto durante la temporada reproductiva, en la que las hembras adultas madres se alimentan a no más de 30 km (Tollit et al., 1998; Härkönen y Harding, 2001; Womble y Gende, 2013). Toda la evidencia discutida aquí sugiere que la foca del puerto del Pacífico tiene hábitos alimentarios locales en aguas mexicanas, lo que contrasta con otros pinnípedos en la región, que se alimentan en aguas abiertas más lejos de la costa.

2.7.2 Relación con la dieta

Este estudio no encontró una correlación significativa entre el espectro trófico y la amplitud del nicho isotópico (SEA_c), lo que puede deberse al hecho de que el análisis a partir de partes duras (otolitos y picos) de las excretas colectadas reflejan la dieta ingerida durante uno o incluso varios días antes del muestreo, mientras que las SEA_c reflejan la dieta asimilada durante los meses anteriores, durante los cuales se produjo la síntesis del pelo. La foca de puerto parece preferir de tres a cinco especies de presas dentro de un amplio espectro trófico potencial, donde estas presas pertenecen a diferentes hábitats y niveles tróficos, posiblemente lo que cause el aumento de la variabilidad isotópica. Por ejemplo, el análisis previo de restos duros (Durazo-Rodríguez, 2015) muestra que las especies de presa de foca de puerto con el IIMPi más alto para ITS fueron el pez rocote (*Sebastes spp.*) y el pez lagarto de California (*Synodus lucioceps*), de hábitos demersales. Las muestras de pelo tomadas de ITS presentaron valores relativamente altos de $\delta^{13}C$, lo que es consistente con el tipo de presas que dependen al menos parcialmente de las fuentes de carbono bentónico (Aurioles-Gamboa et al., 2009; Elorriaga-Verplancken et al., 2016).

2.7.3 Limitaciones

Para una adecuada interpretación de los valores isotópicos de muestras orgánicas, se requiere tomar en cuenta que existen tres fuentes de variación isotópica: 1) la composición isotópica de las presas potenciales; 2) la verificación de cómo ocurre el fraccionamiento isotópico entre las fuentes y el tejido seleccionado a analizar y 3) la ventana temporal que refleja el tejido seleccionado (Newsome et al., 2010).

1) El presente estudio intentó correlacionar los resultados de SIA obtenidos con presas identificadas a partir de restos duros (Durazo-Rodríguez, 2015), pero al no encontrar correlaciones significativas se recomienda ampliamente que estudios futuros caractericen la línea base isotópica y la composición isotópica de la presa potencial. Esta caracterización deberá incluir un muestreo extenso en donde se tomen en cuenta todas las fuentes de variación espacial o temporal, así como las fuentes de nutrientes y productores primarios. Aunque la intensidad del esfuerzo de muestreo necesario y la lejanía de los sitios de muestreo hicieron imposible caracterizar adecuadamente la línea de base, recientemente se han analizado compuestos específicos para obtener los valores isotópicos de línea de base en las redes alimentarias. Por ejemplo, se ha demostrado que los análisis isotópicos de compuestos específicos (CSIA) reflejan las fuentes de origen, así como la línea de base isotópica (McMahon y McCarthy, 2016).

2) En los fócidos se ha reportado un fraccionamiento isotópico muy diferente entre los tipos de tejidos, incluido el suero sanguíneo, los glóbulos rojos y el pelo, que van desde 0.8 a 3.1 ‰ (Lesage et al., 2002). Poco se sabe sobre el fraccionamiento isotópico en la transferencia nutricional de madre a feto durante la gestación. En cambio, en muchas especies de pinnípedos se ha reportado que la composición isotópica de la cría es más alta que la de su madre (Aurióles-Gamboa et al., 2009; Elorriaga-Verplancken et al., 2013a; Elorriaga-Verplancken et al., 2013b), incluso Elorriaga-Verplancken et al. (2013b) lo reportan para la foca de puerto de IN en el mismo tejido que en nuestro estudio. La medición del fraccionamiento madre-cría requiere del manejo de hembras adultas, lo que resulta complicado en individuos de vida libre, por lo que hacerlo en crías es lo recomendable.

3) En este estudio, supusimos que el pelo de la cría de foca de puerto tiene una composición isotópica que refleja los últimos meses de gestación. Además, supusimos que el pelo de la cría comienza a enriquecerse isotópicamente mientras se biosintetiza en el útero, a partir del séptimo mes de gestación. Por lo tanto, los valores isotópicos de las crías se corresponderán con los hábitos alimentarios de la madre durante los últimos tres meses de su gestación. Los resultados de esta investigación explican únicamente la ecología trófica de hembras adultas que fueron madres en el momento del muestreo, no se obtuvo información sobre otras hembras, ni machos, ni de otras categorías de edad (juveniles o adultas). Los requerimientos de energía pueden limitar el comportamiento de alimentación en otras especies de pinnípedos, principalmente durante la temporada de reproducción (Boyd, 1998).

2.8 Conclusiones

Las diferencias tanto en $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ reveladas en esta investigación entre las colonias mexicanas de foca de puerto del Pacífico, corresponden a los gradientes costero-oceánico previamente reportadas en otros trabajos para el $\delta^{13}\text{C}$ y para el gradiente latitudinal para los valores del $\delta^{15}\text{N}$, lo que sugiere condiciones biogeoquímicas locales específicas para cada colonia que se reflejan en los valores isotópicos observados en las crías. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ relativamente altos indicaron que las hembras adultas de *P. v. richardii* se alimentan preferencialmente en hábitats bentónico-demersales y en zonas cerca de la costa, con ligeras diferencias debido al tipo de presas consumidas en cada colonia. Los valores relativamente altos de $\delta^{15}\text{N}$ presentados en la isla más sureña (ISR) y bajos en las norteñas (ITS y EPB) implican un enriquecimiento de ^{15}N latitudinal en la base de la red trófica, aparentemente influenciada por procesos de desnitrificación y microbianos. La variabilidad observada en los valores del $\delta^{15}\text{N}$ puede involucrar similitud taxonómica (similar nivel trófico) entre las presas en las colonias en una escala de tiempo isotópicamente reflejada en el pelo. Una explicación alternativa es que las diferentes presas son similares isotópicamente lo que causa una subestimación del grado de partición de recursos entre las colonias. La baja variación isotópica observada en nuestros resultados indica que la foca de puerto del Pacífico en colonias mexicanas es un consumidor especialista.

Capítulo 3. Elementos químicos en la foca de puerto del Pacífico (*P. v. richardii*) como bioindicador de procesos biogeoquímicos y de contaminación en México

3.1. Introducción

El aumento de la población humana y sus consecuentes actividades antropogénicas han dado como resultado la liberación de algunos elementos químicos al ambiente, los cuales llegan al océano y potencialmente modifican su concentración y distribución natural (Riget y Dietz, 2000; De la Lanza-Espino, 2001; Riget et al., 2004).

Para medir la salud del ecosistema, se han utilizado especies de mamíferos marinos como bioindicadores al reflejar el estado del hábitat en el que se encuentran (Miles et al., 1992). Se les considera organismos centinelas por su larga vida, alto nivel trófico que ocupan, tienen un periodo de eliminación lenta de ciertos elementos (Bouquegneau y Joiris, 1988; André et al., 1990; Dietz et al., 1998; Ross, 2000; Wells et al., 2004; Bossart, 2006; Moore, 2008), y algunos de ellos los bioacumulan, bioconcentran o biomagnifican (Duce et al., 1975; Wilhelmy y Flegal, 1991; Law, 1996; Ridgway et al., 2003; Jakimska et al., 2011), volviéndose tóxicos en el organismo de estas especies (Atwell et al., 1998; Kakuschke y Prange, 2007; Ross et al., 2009). Esto podría generar impactos negativos directos en los depredadores tope o de los niveles tróficos de los que se alimenta e incluso generar declives poblacionales (Sarokin y Schulkin, 1992; De Guise et al., 1995; Forcada et al., 1995; Bjerregaard y Hansen, 2000; Woshner et al., 2001a; Seixas et al., 2009), al ser la dieta la vía principal de entrada de elementos químicos (Saeki et al., 1999a; Saeki et al., 2001; Brookens et al., 2007).

Lo anterior es de especial importancia para especies que se encuentran cercanas a áreas urbanizadas o industrializadas, donde la exposición a estos elementos es mayor, lo que las hace aún más susceptibles a acumular concentraciones de sustancias tóxicas (Von Glasow et al., 2013). En particular, existen ciertas características que colocan a la foca de puerto del Pacífico (*Phoca vitulina richardii*) como un buen indicador de la salud del ecosistema, al ser una subespecie no migratoria, altamente filopátrica, consumidor de alto nivel trófico, que habita cerca de zonas costeras y se alimenta cerca de sus zonas de descanso. En el caso de las hembras, se ha reportado que en temporada reproductiva realizan viajes cortos de alimentación, no se alejan más de 7 km a la redonda (Mate, 1977; Roffe y Mate, 1984; Härkönen, 1987a; Tollit et al., 1998; Frost et al., 2001; Harvey et al., 1995), aunque Lubinsky-Jinich (2019) reportó que para

Isla Todos Santos las focas en general realizan movimientos cortos a una distancia <30km de su sitio de descanso, con la excepción de una hembra juvenil que se alejó 175km .

En México, la foca de puerto habita en nueve islas, bahías y playas de bolsillo, distribuyéndose en 44 sitios en áreas continentales a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (Lubinsky-Jinich et al., 2017). Durante la temporada reproductiva, la ubicación de los sitios de alimentación de las hembras) está influenciada por la proximidad al sitio reproductivo, donde amamantan a sus crías (Van Parijs et al., 1997).

Uno de los sitios más vulnerables en los que la foca de puerto habita en México es el Estero de Punta Banda, el cual es un sitio RAMSAR, así como prioritario para la conservación por el Programa de Regiones para la Conservación de la Biodiversidad de la CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). Sin embargo, debido a su cercanía principalmente con el asentamiento humano de Maneadero, al uso agrícola de su zona circundante, las actividades turístico-recreativas que ahí se llevan a cabo y la contaminación de su cuerpo lagunar (CONANP, 2012), podrían colocarlo como un hábitat crítico para el descanso, reproducción y alimentación de la colonia de focas que ahí habita.

Hasta ahora son pocos los trabajos que han medido las concentraciones de elementos químicos en especies de vida libre. En pinnípedos, la investigación se ha centrado principalmente en tejidos como el hígado, riñón, músculo, sangre y en menor medida en pelo (Ikemoto et al., 2004; Andrade et al., 2007; Brookens et al., 2007; Brookens et al., 2008; Griesel et al., 2008; Peterson et al., 2015). Este último tejido ha sido considerado durante muchos años un buen indicador del contenido de elementos en el organismo (Apostoli, 2002). Su colecta representa una técnica poco invasiva y relativamente fácil (McHuron, 2012). Además, las concentraciones en el pelo pueden reflejar niveles de elementos en la sangre circulante durante el tiempo de crecimiento del mismo, aunado a que representa una vía de excreción para algunos elementos (Wenzel et al., 1993; Saeki et al., 1999b). Las concentraciones en el pelo pueden variar por el estado fisiológico en el que estaba el organismo al momento de la colecta (muda, ayuno, nacimiento reciente, crecimiento) (Wenzel et al., 1993; Gray et al., 2008), lo cual, entre otros factores, también modula la toxicidad de dichos elementos.

Debido a lo anterior es imprescindible medir y monitorear las concentraciones de elementos químicos, conocer su origen, nivel de toxicidad y posibles impactos de aquellos elementos que

representen una amenaza a la salud de las poblaciones de foca de puerto en México, sobre todo en aquellas que viven cerca de áreas urbanizadas o que estén siendo impactadas continuamente.

Para determinar si la foca de puerto del Pacífico es un buen indicador del estado del ecosistema donde habita, definir con mayor precisión sus áreas de alimentación, evidenciar sitios contaminados y conocer cuáles son los procesos oceanográficos y biogeoquímicos que dominan en los sitios de estudio distribuidos a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (Estero de Punta Banda y las islas Todos Santos, San Jerónimo, Natividad y San Roque), se midieron las concentraciones de Ag, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Sb, Se, Pb, V y Zn en pelo de crías de foca de puerto. Para inferir el origen de éstos elementos se investigaron las fuentes naturales, así como los procesos biogeoquímicos que dominan en el área en esta temporada, además para determinar si las concentraciones de algunos elementos representan un peligro para la salud de esta subespecie se compararon con los valores de las concentraciones reportadas como tóxicas en otras especies de mamíferos marinos.

3.2 Antecedentes

3.2.1 Clasificación de los elementos químicos

Un elemento químico se caracteriza por tener un número atómico único (número de protones en su núcleo), el cual determina su propiedad esencial (Dean, 1987). Los elementos químicos pueden clasificarse de acuerdo a sus características en **metales** (tendencia a perder electrones y convertirse en cationes, la forma principal en la que están en el ambiente), **no metales** (tendencia a ganar electrones y convertirse en aniones), y **metaloides** o en transición (con propiedades en común con metales y no metales) (Pais y Jones Jr, 1997). Dentro de los metales, existen los **esenciales**, necesarios en cantidades pequeñas para actividades vitales (p.e. para enzimas, pigmentos que transportan oxígeno), pero que se pueden convertir en tóxicos cuando son acumulados por un organismo en concentraciones mayores a las que la especie necesita. De todos los elementos conocidos en la tabla periódica, 29 son esenciales para el crecimiento y desarrollo de los seres vivos, dentro de ellos 18 son elementos traza (encontrados en relativamente bajas concentraciones, <0.1%, en la corteza terrestre, suelo, agua, plantas, animales y en el humano). Los metales **no esenciales**, no son necesarios y se vuelven tóxicos inmediatamente después de ser acumulados en el organismo (Nikinmaa, 2014).

En los últimos años, se ha acostumbrado a hablar sobre “metales pesados” cuando se evalúa la toxicidad de los metales, y se refiere a elementos con densidades mayores a 5g cm^{-3} y usualmente es referido a metales y metaloides asociados con su toxicidad y contaminación (Adriano, 2001). Sin embargo, la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (I.U.P.A.C., por sus siglas en inglés) no recomienda su uso, en su lugar aconseja referirse a “contaminación por metales” y optar por la definición del tipo de metal con precisión (Nikinmaa, 2014).

3.2.2 Definición de los elementos químicos estudiados

La selección de elementos elegidos para este trabajo, se enuncian a continuación, y se basó principalmente en su importancia ecológica en los ecosistemas marinos y para los mamíferos marinos:

Plata (Ag)

La plata es un elemento que se encuentra de forma natural en el ambiente, en el suelo, principalmente en forma de cloruro o sulfuro, insoluble y por lo tanto inmóvil. Mientras el sulfuro no se oxide a sulfato, su movilidad y capacidad de contaminar el medio acuático es insignificante (ATSDR, 1990; FAO, 1999). A niveles muy altos, puede causar argiria, una coloración azul-gris de la piel u otros órganos (ATSDR, 1990). La plata puede ser liberada en el aire y el agua a través de procesos naturales como la erosión de las rocas, o por actividades humanas como el procesamiento de minerales, fabricación de cemento, fabricación de nitrato de plata, bromuro de plata y otros, en equipos de destilación de agua y equipos médicos, quema de combustibles fósiles y procesamiento fotográfico (FAO, 1999). Su introducción en el océano puede deberse a que el óxido de plata es usado para desinfectar suministros de agua, así como por el desecho de agentes antibacteriales (ATSDR, 1990). La lluvia puede arrastrar la plata del suelo al agua subterránea y hasta ahora no hay estudios suficientes que fundamenten su bioconcentración significativa en organismos acuáticos (ATSDR, 1990). La Agencia para la Protección Ambiental de Estado Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) recomienda no beber más de 0.1mg L^{-1} .

Arsénico (As)

El arsénico es un elemento natural ampliamente distribuido en la corteza terrestre, se encuentra en el ambiente combinado con oxígeno, cloro, azufre (inorgánico) o con carbono e hidrógeno

(presentación orgánica) (ATSDR, 2000). Su forma inorgánica (tóxica) está presente en el suelo y las rocas particularmente asociadas con minerales de cobre y de plomo; también puede originarse de las erupciones volcánicas. Procesos industriales contribuyen a la liberación del As en forma de polvo, el cual es depositado por sedimentación, lixiviación o arrastre, tales como los de minería, metalurgia, producción de vidrio y en general, todos aquellos que involucran combustión. Las partículas de As en el aire son transportadas por el viento a grandes distancias y con la lluvia son incorporadas al suelo, también puede en parte disolverse en el agua contaminando lagos, ríos y fuentes subterráneas (ATSDR, 2000). El arsénico no puede ser destruido en el ambiente, sólo puede cambiar de forma. La mayor parte del arsénico en el agua terminará eventualmente en el suelo o sedimento (ATSDR, 2000).

Las principales reservas de As son el magma, los sedimentos, las profundidades del océano y la tierra, desde donde es movilizado a la tropósfera por procesos tanto naturales como antropogénicos (Eisler, 1994). En el ambiente puede oxidarse y/o reducirse, lo cual es un factor muy importante en su ciclo. En el ambiente marino, es adsorbido por los óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso y puede ser acumulado por el zooplancton, las algas y otros organismos. Algunos organismos marinos convierten estos compuestos inorgánicos en compuestos orgánicos de menor toxicidad (arsénico metilado), siendo éstos los que se encuentran presentes en mayor grado, por lo cual es posible encontrar en muchas especies de plantas y animales marinos altas concentraciones de As sin que éste sea perjudicial. El As orgánico es eliminado rápidamente por peces y otros organismos acuáticos (Eisler, 1994). Este puede ser bioconcentrado por los organismos pero no puede ser biomagnificado en las cadenas alimentarias acuáticas, siendo más sensibles los organismos en sus primeros estadios de vida (ATSDR, 2000).

Las concentraciones totales de As varían entre diferentes especies, lo que depende de diversos factores: bióticos (especie, sexo, edad, tejido muestreado, dieta, metabolismo) y abióticos (temperatura, localización específica y diferencias geológicas), los cuales pueden afectar la acumulación en los organismos marinos. Entre los diferentes factores ecológicos y fisiológicos, la dieta y la posición en la cadena alimentaria son determinantes (Cabana y Rasmussen, 1996). Las especies acuáticas más sensibles a los efectos nocivos son algunas algas marinas, donde se ha reportado un menor crecimiento y malformaciones, y los peces pueden bioacumular el arsénico (ATSDR, 2000).

La exposición a niveles altos de arsénico se produce en sitios de desechos peligrosos, o en áreas con altos niveles naturales. En niveles altos, el arsénico inorgánico puede causar la muerte, aunque la mayor parte de este arsénico está en forma orgánica (arsenobetaína) que es mucho menos dañina. La exposición a niveles bajos pero prolongados puede causar náuseas y vómitos, decoloración de la piel

disminución de la producción de glóbulos rojos y blancos, ritmo cardíaco anormal, daño a los vasos sanguíneos. La ingestión o inhalación prolongada de bajos niveles de arsénico inorgánico durante varios días puede causar un oscurecimiento de la piel y la aparición de pequeños granos o verrugas (ATSDR, 2000). La EPA ha establecido un límite de 0.01 mg L^{-1} para el arsénico en el agua potable (EPA, 2019).

Bario (Ba)

El Ba es un elemento que sólo existe en minerales. Los compuestos de bario que se disuelven fácilmente en el agua son el cloruro, nitrato e hidróxido de bario (formas con poca permanencia), pero que al combinarse con sulfatos o carbonatos aumentan su permanencia en el ambiente, además de que es un elemento que se bioacumula en los peces (ATSDR, 2007).

El bario es un metal blanco plateado que existe en la naturaleza sólo en los minerales que contienen mezclas de elementos. Se combina con otros productos químicos, como azufre o carbono y el oxígeno para formar compuestos de bario. Los compuestos de bario son utilizados por las industrias del petróleo y del gas para los lodos de perforación, para hacer pintura, ladrillos, cerámica, vidrio, y el caucho (ATSDR, 2007). El bario entra al aire durante la extracción, purificación y producción de compuestos de bario y de la quema de carbón y petróleo (ATSDR, 2007). La duración en tiempo de bario en el aire, la tierra, el agua o los sedimentos depende de la forma de bario liberada (ATSDR, 2007).

Los compuestos de bario, como el sulfato de bario y carbonato de bario, que no se disuelven en agua, pueden durar de días a meses en el ambiente que dependiendo de varios factores (Elsdon y Gillanders, 2006). Por otro lado, los compuestos como el cloruro de bario, nitrato de bario o hidróxido de bario, que se disuelven fácilmente en el agua, por lo general no duran en estas formas durante mucho tiempo (días) (ATSDR, 2007). El bario en estos compuestos que se disuelven en agua se combina rápidamente con sulfato o carbonato que se encuentra de forma natural en el agua y se convierten en las formas de mayor duración (sulfato de bario y carbonato de bario) (ATSDR, 2007). Los peces y otros organismos acuáticos pueden acumular bario (Jabeen et al., 2012).

Los efectos sobre la salud de los diferentes compuestos de bario dependen de la solubilidad del compuesto en agua o en el contenido del estómago. Los compuestos de bario que no se disuelven bien, como el sulfato de bario, generalmente no son perjudiciales (ATSDR, 2007). El bario se ha encontrado que potencialmente causa trastornos gastrointestinales y debilidad muscular (ATSDR, 2007). La EPA ha establecido un límite de 2.0 miligramos de bario por litro de agua potable (2.0 mg L^{-1}).

Cadmio (Cd)

El cadmio es un metal no esencial y un elemento natural en la corteza terrestre. Se encuentra generalmente como un mineral combinado con otros elementos como el oxígeno (óxido de cadmio), cloro (cloruro de cadmio) o de azufre (sulfato de cadmio, sulfuro de cadmio (ATSDR, 2012)). Tiene una distribución vertical fuertemente correlacionada con la de nutrientes inorgánicos en solución (fosfatos y nitratos). Su distribución en el mar se caracteriza por niveles bajos en superficie (5mg L^{-1}), que se incrementan marcadamente bajo la termoclina, alcanzando sus niveles máximos a los 1000 m de profundidad. La biogeoquímica de este elemento está marcada por el ciclo de la materia orgánica (Knauer y Martín, 1981). Las surgencias son un mecanismo de transporte de Cd en solución hacia la superficie (Lares-Reyes, 1988).

Se puede hallar cadmio en la atmósfera, el agua y el suelo. De forma natural grandes cantidades de cadmio son liberadas al ambiente, aproximadamente 25,000 toneladas al año, de las cuales gran parte son vertidas a los ríos procedente de la descomposición de las rocas, mientras que una pequeña parte es liberada a la atmósfera a través de los incendios forestales, actividad volcánica, quema de combustibles fósiles y residuos urbanos e industriales (ATSDR, 2012).

La contaminación de este metal se relaciona con la industria del zinc y del plomo. También se producen emisiones de cadmio, aunque en menor grado, en la combustión de basuras y carbón, producción de cementos y en la industria del acero (ATSDR, 2012). Los daños a nivel global del cadmio son poco importantes, en este metal se ha observado que la relación de contaminación es de regional a local (ATSDR, 2012).

Calcio (Ca)

El calcio es un metal suave grisáceo, y es el quinto más abundante en masa en la corteza terrestre (Dickson y Goyet, 1994). Además de su función en la construcción y mantenimiento de huesos y dientes, el calcio también tiene otras funciones metabólicas como estabilizador de la membrana, en la transmisión de iones a través de las membranas, y la liberación de neurotransmisores. El calcio actúa como mediador intracelular cumpliendo una función de segundo mensajero; por ejemplo, el ion Ca^{2+} interviene en la contracción de los músculos. También está implicado en la regulación de algunas enzimas quinasas que realizan funciones de fosforilación, por ejemplo la proteína quinasa C (PKC), y realiza unas funciones enzimáticas similares a las del magnesio en procesos de transferencia de fosfato (Dickson y Goyet, 1994). Se requiere calcio en la transmisión nerviosa y en la regulación de los latidos cardíacos. El equilibrio

adecuado de los iones de calcio, sodio, potasio y magnesio mantiene el tono muscular y controla la irritabilidad nerviosa (Dickson y Goyet, 1994).

Los aumentos en las concentraciones de calcio están relacionadas con lipemia (aumentos de colesterol y triglicéridos en la sangre), hemólisis (desintegración de eritrocitos); en cambio, sus bajas concentraciones son causa de deficiencia nutricional y problemas neuromusculares (White y Francis-Floyd, 1990).

Cobalto (Co)

El cobalto es un elemento esencial para los organismos y se encuentran naturalmente en las rocas, suelo, agua, plantas y animales, generalmente en pequeñas cantidades. El cobalto elemental es un metal gris plateado duro. Sin embargo, el cobalto generalmente se encuentra en el ambiente combinado con otros elementos como oxígeno, azufre y arsénico. En el agua está de forma iónica, presenta estados de oxidación bajos. Los compuestos en los que el cobalto tiene un estado de oxidación de +4 son poco comunes. El estado de oxidación +2 es muy frecuente, así como el +3. También existen complejos importantes con el estado de oxidación +1. Un compuesto de cobalto bioquímicamente importante es la vitamina B12 o cianocobalamina, que es esencial para la salud de los animales (ATSDR, 2004b). Como metal el cobalto generalmente se mezcla con otros metales para formar aleaciones, que son más resistentes al desgaste y la corrosión, utilizadas comúnmente en aplicaciones militares e industriales, como motores de aviones, imanes y herramientas de rectificado, en articulaciones artificiales de cadera y rodilla. Los compuestos de cobalto se usan como colorantes en vidrio, cerámica y pinturas, como catalizadores y como secadores de pintura. Los compuestos de cobalto también se usan como aditivos de oligoelementos en agricultura y medicina (ATSDR, 2004b).

El cobalto llega al aire a través del polvo arrastrado por el viento de erupciones volcánicas, incendios forestales, y puede ingresar al océano por escorrentía y lixiviación de suelos. El cobalto puede ser liberado a la atmósfera por centrales eléctricas, plantas de energía e incineradores de carbón, gases de escape de vehículos, actividades industriales relacionadas con la minería y otros procesos de combustión. Los radioisótopos de Cobalto (^{58}Co y ^{60}Co) pueden liberarse al ambiente como resultado de accidentes nucleares (p.e. Chernobyl), el vertido de desechos radiactivos en el mar o de vertederos de desechos radiactivos, y operaciones de plantas de energía nuclear. El cobalto no puede ser destruido en el ambiente, sólo puede cambiar su forma o adherirse o separarse de las partículas (ATSDR, 2004b).

La concentración de cobalto en el suelo varía ampliamente, generalmente en un rango de aproximadamente 1 a 40 mg L⁻¹. Los suelos que contienen <3 ppm de cobalto se consideran deficientes causando que las plantas no puedan crecer. Las plantas pueden bioacumular el cobalto y los animales pueden biomagnificarlo. El promedio de consumo de cobalto por persona es de 11 µg, pero si respira 0.038 mg m⁻³ los efectos pueden ser asma, neumonía, enrojecimiento de la piel, daño en el corazón y pulmones.

Cobre (Cu)

El cobre es un metal que se produce naturalmente en el ambiente, en rocas, suelo, agua y aire (ATSDR, 2004a). Es un metal de transición, el cual posee una alta conductividad eléctrica, ductilidad y maleabilidad, lo que lo ha convertido en el material más utilizado para fabricar cables eléctricos y otros componentes eléctricos. Es de apariencia metálica, blando, dúctil, maleable y de color pardo-rojizo. El cobre es un elemento esencial para las plantas y los animales, ampliamente distribuido en la naturaleza. Es un componente esencial de múltiples enzimas, como las oxidasas, dentro de las cuales la citocromo c oxidasa desempeña un papel fundamental en el metabolismo energético de la célula; de la enzima superóxido dismutasa, responsable de la reducción del radical superóxido a agua oxigenada, el cual es un proceso importante de detoxificación que protege a la célula de la potente acción oxidante de ese radical. También es esencial para la utilización del hierro, para el tejido conectivo y la pigmentación (Moreno-Graw, 2003).

Las fuentes del cobre pueden ser tanto naturales (Lewis, 1995) como antropogénicas. Estas últimas relacionadas con la minería, la fabricación de equipamiento eléctrico, material de construcción, maquinaria industrial y aleaciones. Presenta distintos usos dependiendo de la aleación, por ejemplo con níquel, se utiliza como material de construcción resistente a la corrosión en agua de mar, empleándose en bombas submarinas, hélices de buques, material constructivo de plantas desalinizadoras y preservador de madera. La forma del cobre en estos usos es metálica, con estado de oxidación 0. Cuando el estado de oxidación es +2, se utiliza en forma de sales de cobre como plaguicida, fungicida, rodenticida y alguicida (Moreno-Graw, 2003).

Hierro (Fe)

Este metal de transición es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre, representando un 5% (Garritz y Chamizo, 1998). Aunque sólo existe en pequeñas cantidades en los seres vivos, el hierro ha asumido un papel vital en el crecimiento y en la supervivencia de los mismos y es

necesario no sólo para lograr una adecuada oxigenación tisular, sino también para el metabolismo de la mayor parte de las células (Chantes-Guerra et al., 2012). El hierro se encuentra en el ambiente casi exclusivamente en forma oxidada (Fe^{3+}) y en esta forma es poco utilizable (Garritz y Chamizo, 1998).

Magnesio (Mg)

Constituye el 2 % de la corteza terrestre y es el tercer elemento más abundante disuelto en el agua de mar (Aranda et al., 2000). El magnesio no se encuentra en la naturaleza en estado libre (como metal), sino que forma parte de numerosos compuestos, en su mayoría óxidos y sales; es insoluble (Aranda et al., 2000).

La mayor parte del magnesio se encuentra en los huesos y sus iones son importantes para la actividad de muchas coenzimas y en reacciones que dependen del ATP. También ejerce un papel estructural, ya que el ion de Mg^{2+} tiene una función estabilizadora de la estructura de cadenas de ADN Y ARN, interviene en la formación de neurotransmisores y neuromoduladores, repolarización de la neuronas, relajación muscular (siendo muy importante su acción en el músculo cardíaco). El magnesio actúa como energizante y calmante en el organismo. La pérdida de magnesio se debe a diversas causas, en especial cuando el individuo se encuentra en circunstancias de estrés físico o mental (Aranda et al., 2000).

Plomo (Pb)

El plomo es un metal gris-azulado que ocurre naturalmente en pequeñas cantidades en la corteza terrestre. El plomo se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente, se encuentra en depósitos de mineral de Pb concentrados y de fácil acceso que están ampliamente distribuidos en todo el mundo. Históricamente, una fuente importante de Pb en el ambiente son las emisiones antropogénicas a la atmósfera por la combustión de gasolina con plomo, aunque también proviene de actividades como la minería, manufactura industrial y de la quema de combustibles fósiles. (ATSDR, 2019).

El Pb no se degrada en el ambiente, aunque puede existir en varias formas químicas. El material particulado contaminado con Pb puede transportarse a través del aire, el agua y el suelo. En general, la deposición atmosférica es la mayor fuente de Pb que se encuentra en suelos no afectados por otras fuentes locales que no son aire (por ejemplo, polvo de pintura con plomo deteriorada). El Pb se transfiere continuamente entre el aire, el agua y el suelo mediante procesos químicos y físicos naturales, tales como

la meteorización, la escorrentía, la precipitación, la deposición seca de polvo y el flujo de la corriente/río; sin embargo, el suelo y los sedimentos parecen ser sumideros importantes para Pb. El Pb se adsorbe fuertemente en la mayoría de los suelos, lo que limita la velocidad de lixiviación. La acidez del suelo (pH) y la composición son los factores más importantes que afectan la solubilidad, movilidad y fitodisponibilidad de Pb en el suelo. Otras condiciones que aumentan la movilidad de Pb en el suelo son las condiciones reductoras y el alto contenido de cloruro. La movilización del plomo desde el suelo al agua subterránea dependerá del tipo de compuesto de plomo y las características del suelo (ATSDR, 2019).

El plomo es un metal pesado de densidad relativa 11.4 a 16 °C, de color plateado con tono azulado, que se empaña para adquirir un color gris mate. Es flexible, inelástico y se funde con facilidad. Su fusión se produce a 327.4°C y hierve a 1725°C. Las valencias químicas normales son 2 y 4. Es relativamente resistente al ataque del ácido sulfúrico y clorhídrico, aunque se disuelve con lentitud en ácido nítrico y ante la presencia de bases nitrogenadas. El plomo es anfótero, ya que forma sales de plomo de los ácidos, así como sales metálicas del ácido plúmbico. Tiene la capacidad de formar muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos (ATSDR, 2019).

La mayoría de los minerales contienen menos del 10 % de plomo, y los minerales que contienen tan poco como 3 % de plomo pueden ser explotados económicamente. El plomo metálico que resulta de los procesos de horno de calcinación y alto horno todavía contienen significativas cantidades de contaminantes: arsénico, antimonio, bismuto, zinc, cobre, plata y oro (ATSDR, 2019).

Los efectos sobre la salud de Pb son diversos, y la exposición a Pb está asociada con la toxicidad para cada órgano, debido a que los mecanismos de acción asociados con la toxicidad inducida por Pb, incluidas las perturbaciones de la homeostasis iónica y el transporte, la unión a proteínas, el estrés oxidativo y la inflamación, son comunes a todos los tipos de células. Para todos los sistemas de órganos, se ha observado toxicidad a una concentración $\leq 10 \mu\text{g} / \text{dL}$ (ATSDR, 2019).

Antimonio (Sb)

El antimonio es un elemento semimetálico y tiene cuatro formas alotrópicas. En su forma estable es un metal blanco azulado. El Sb negro y el amarillo son formas no metálicas inestables. Principalmente se emplea en aleaciones metálicas y algunos de sus compuestos para dar resistencia contra el fuego, en pinturas, cerámicas, esmaltes, vulcanización del caucho y fuegos artificiales (Nordberg et al., 2007).

El Sb es liberado al ambiente desde fuentes naturales e industriales. Puede permanecer en el aire adherido a partículas muy pequeñas por muchos días. La mayoría del antimonio en el aire se deposita en el suelo, en donde se adhiere firmemente a partículas que contienen hierro, manganeso o aluminio. Los altos niveles de antimonio en el aire que respiramos por períodos muy largos pueden ocasionar irritación de los ojos y los pulmones y causar problemas respiratorios, del corazón y del estómago (Nordberg et al., 2007).

El límite de exposición ocupacional es 0.5 mg de antimonio por m³ de aire por un día laborable de 8 h. El nivel máximo permitido del antimonio en agua potable en Europa es 0.006 mg L⁻¹. En el aire urbano, la principal fuente de antimonio es la combustión de combustibles fósiles en vehículos automotores, centrales eléctricas e incineradores (Nordberg et al., 2007).

El inventario tóxico de Estados Unidos de la EPA para el período de 1993 a 2005 demostró que las plantas industriales de E.U.A. lanzaron más de 900 t/año de antimonio en todas las formas a la tierra y cerca de 25 t/año al agua subterránea. Del antimonio lanzado a la tierra por industrias importantes, los fundidores de cobre primarios suponen cerca de 60%; fundidores primarios para otros metales no ferrosos, 20%; fundidores no ferrosos secundarios, 7% y refinerías de petróleo, 2%. El 11% restante se atribuye a la fabricación de varios productos del antimonio. El lanzamiento postconsumo del antimonio de productos desechados del uso final es también de importancia.

Respirar altos niveles de antimonio por largo tiempo puede irritar los ojos y los pulmones, y puede causar trastornos del corazón y de los pulmones, dolor de estómago, diarrea, vómitos y úlceras estomacales. En estudios de exposición breve, los animales que respiraron niveles muy altos de antimonio fallecieron. Los animales que respiraron altos niveles sufrieron daño a los pulmones, el corazón, el hígado y los riñones. Los animales que respiraron niveles muy bajos de antimonio por largo tiempo sufrieron irritación a los ojos, caída del pelo, daño al pulmón y trastornos al corazón. También se observaron efectos sobre la fertilidad en ratas que respiraron niveles muy altos de antimonio por unos meses. Ingerir grandes cantidades de antimonio puede causar vómitos, sin embargo, no se sabe que otros efectos pueden ocurrir al ingerir antimonio. Los estudios de larga duración en animales han demostrado lesiones del hígado y alteraciones en la sangre. El antimonio puede irritar la piel si no se remueve pronto (ATSDR, 1995).

Selenio (Se)

El selenio es un elemento semimetálico sólido que ocurre naturalmente en el ambiente, distribuido desigualmente en la corteza terrestre. También se encuentra comúnmente en las rocas y el suelo. El selenio, en su forma más pura de color gris metalizado con cristales negros, se conoce como selenio elemental. (ATSDR, 2003).

La erosión de las rocas y el suelo puede causar niveles bajos de selenio en el agua, que pueden ser absorbidos por las plantas. El selenio entra al aire de forma natural de la quema de carbón o el petróleo, de la erosión y de las erupciones volcánicas que liberan partículas finas de polvo de selenio. Al estar presente en los combustibles fósiles, se puede combinar con el oxígeno cuando se quema, por lo que podría reaccionar con el agua para formar compuestos de selenio solubles. Las formas y destino de selenio en el suelo dependen en gran medida de la acidez del entorno y su interacción con el oxígeno. En ausencia de oxígeno cuando el suelo es ácido, la cantidad de selenio que puede entrar en las plantas y los organismos es baja. El selenio elemental que no se disuelve en el agua y otras formas insolubles de selenio son menos móviles y por lo general permanecen en el suelo, lo que representa menor riesgo de exposición. Los compuestos de selenio que se pueden disolver en agua son a veces muy móviles, por lo que hay una mayor probabilidad de exposición a estos compuestos. El selenio puede entrar en las aguas superficiales de las aguas de drenaje de riego, en donde puede ser absorbido en los tejidos de los organismos acuáticos y, posiblemente, aumentar su concentración a través de la cadena alimentaria. Las concentraciones de selenio en organismos acuáticos ha sido un problema como resultado de la escorrentía de riego (ATSDR, 2003). Por otro lado, el selenio es un elemento esencial que ayuda a mitigar o aminorar el efecto tóxico del Hg a través de un número de puentes directos y mecanismos antioxidantes, incluyendo la formación de complejos no tóxicos Se-Hg (Ikemoto et al., 2004).

El selenio es un micronutriente, presente en el aminoácido selenocisteína y también se puede encontrar como selenometionina, emplazando al azufre de la cisteína y la metionina respectivamente, forma parte de las enzimas glutatión peroxidasa y tiorredoxina reductasa (ATSDR, 2003). Es antioxidante, ayuda a neutralizar los radicales libres, induce la apoptosis o muerte celular, estimula el sistema inmunológico e interviene en el funcionamiento de la glándula tiroides (ATSDR, 2003).

Algunas concentraciones de selenio resultan quimioprotectoras frente a la apoptosis inducida por estrés oxidativo. Aún es tema de investigación, pero se sabe que la forma química en la que se encuentra el selenio (selenito, selenato selenoaminoácidos) afecta a su absorción y a su posible toxicidad. Los datos

actuales apuntan a que la forma orgánica (formando parte de proteínas como selenoaminoácidos) es la más beneficiosa para los animales (ATSDR, 2003). La deficiencia de selenio es relativamente rara, pero puede darse en pacientes con disfunciones intestinales severas o con nutrición exclusivamente parenteral, así como en poblaciones que dependan de alimentos cultivados en suelos pobres en selenio. La ingesta diaria recomendada para adultos es de 55-70 μg ; más de 400 μg puede provocar efectos tóxicos (selenosis) (ATSDR, 2003).

Existen tres especies de selenio disuelto en los perfiles verticales y horizontales del Pacífico Norte: selenito, selenato y seleniuro orgánico en aguas superficiales. El seleniuro orgánico constituye aproximadamente el 80% del selenio disuelto total; las concentraciones de selenito son uniformemente bajas y las concentraciones de selenato aumentan en la mezcla vertical. El máximo de seleniuro orgánico (selenoaminoácidos en péptidos) coincide con los máximos de productividad primaria, pigmentos, bioluminiscencia y aminoácidos libres disueltos. Las aguas oceánicas profundas están enriquecidas en selenito y selenato, mientras que el seleniuro orgánico no es detectable. En aguas suboxicas del Pacífico tropical del noreste, las concentraciones de seleniuro orgánico aumentan, mientras que los valores de selenito disminuyen. El flujo descendente de selenio particulado generalmente disminuye con la profundidad, y el selenio particulado se encuentra principalmente en el estado de oxidación (-2) (Cutter y Bruland, 1984).

Vanadio (V)

El vanadio es un metal dúctil, blando y poco abundante. Se encuentra en distintos minerales y se emplea principalmente en algunas aleaciones (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Es un metal suave, de color blanco agrisado, maleable y de transición dúctil. La formación de una capa de óxido del metal estabiliza al elemento contra la oxidación (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

El elemento se encuentra naturalmente en minerales; existen 75 diferentes tipos de vanadio y es abundante en los depósitos de combustibles fósiles. Los más representativos son la patronita y vanaditina. Éste último es más importante como mineral de uranio, pero también se puede recuperar el vanadio. Se produce en China y Rusia, otros países lo producen por el polvo de combustión de aceite pesado o como un subproducto de la minería de uranio. Se utiliza principalmente para producir aleaciones de aceros especiales, tales como aceros para herramientas de alta velocidad. El pentóxido de vanadio se utiliza como catalizador para la producción de ácido sulfúrico. El vanadio se encuentra en muchos organismos, y es

utilizado por algunas formas de vida como un centro activo de las enzimas (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Se sabe desde hace tiempo que se producen concentraciones extremadamente altas de vanadio en la sangre de ascidias entre organismos marinos (Michibata y Sakurai, 1990). El vanadio se distribuye ampliamente en concentraciones muy bajas en la mayoría de los animales, sin embargo, se ha discutido si el vanadio es esencial para los animales (Nielsen, 1987). Entre las funciones bioquímicas y fisiológicas del vanadio están la inhibición de (Na, K) –ATPasa, la estimulación de la síntesis cíclica de AMP y la acción anticancerígena (Thompson et al., 1984). Aunque las emisiones de vanadio hechas por el humano al ambiente han aumentado por la quema de combustibles fósiles, el comportamiento ambiental de este elemento rara vez se ha estudiado. Esta escasez de estudios está relacionada con la ausencia de problemas ambientales causados por el elemento, a diferencia del mercurio y el cadmio, y la falta de métodos analíticos sensibles para el análisis del elemento. Incluso es casi inexistente la información sobre el comportamiento y la distribución del vanadio en animales silvestres (Saeki et al., 1999b).

Zinc (Zn)

El zinc es un elemento ampliamente distribuido en la naturaleza, pero no es abundante, ya que representa sólo el 0.012% de la corteza terrestre (Rubio et al., 2007). Interviene en el metabolismo de las proteínas y ácidos nucleicos, estimula la actividad de aproximadamente 100 enzimas, colabora en el buen funcionamiento del sistema inmunitario, es necesario para la cicatrización de las heridas, interviene en las percepciones del gusto y el olfato y en la síntesis del ADN (Rink y Gabriel, 2000).

El zinc es liberado al ambiente por procesos naturales, pero la mayor parte proviene de actividades humanas (minería, producción de acero, combustión de petróleo e incineración de basura). Se adhiere al suelo, sedimentos y a partículas de polvo en el aire, la lluvia lo remueve del aire, y dependiendo del tipo de suelo, algunos compuestos de zinc pueden movilizarse al agua subterránea y a cuerpos de agua. La mayor parte del zinc en el suelo permanece adherido a partículas de suelo y no se disuelve en agua (ATSDR, 2005).

Los efectos nocivos generalmente se empiezan a manifestar a niveles de 10-15 veces más altos que la cantidad esencial. Si se ingiere en periodo corto gran cantidad puede causar calambres estomacales, náusea y vómitos, pero si es en grandes cantidades durante un período prolongado pueden ocurrir anemia y problemas reproductivos (ATSDR, 2005). Si se inhala produce la enfermedad fiebre de vapores de metal

(ATSDR, 2005). La EPA recomienda que el agua potable contenga no más de 5 miligramos de zinc por litro de agua (5 mg L^{-1}). La EPA requiere que se le notifique de cualquier liberación al ambiente de 1,000 libras (en algunos casos 5,000 libras) de zinc o más.

3.2.3 Factores que afectan las concentraciones de elementos químicos en mamíferos marinos

La importancia de definir a un compuesto como contaminante radica en que su toxicidad se potencia al combinarse con compuestos orgánicos, al ir ingresando a través de cada escalón en la cadena alimentaria, y al no poder ser degradados en tasas de tiempo cortas durante los procesos de **bioconcentración** (proceso de ingreso del contaminante químico, a través del tejido epitelial o vías respiratorias y su subsecuente concentración dentro del cuerpo de los tejidos del organismo a un nivel que excede las concentraciones del ambiente donde vive (Hall, 2014), **bioacumulación** (acumulación neta, con el paso del tiempo, del aumento de la concentración de una sustancia en el organismo expuesto a partir de fuentes tanto bióticas como abióticas) y **biomagnificación** (proceso por el cual el contaminante químico incrementa en cada nivel de la cadena trófica, por lo que entre más alto sea el nivel trófico del organismo, mayor será la concentración del contaminante en sus tejidos (Atwell et al., 1998). Para considerar a un compuesto como contaminante se debe tener en cuenta: a) la cantidad de compuesto liberado, b) la forma particular en la que el elemento está presente y la solubilidad del compuesto en el agua, c) la fugacidad, d) transformación, e) formación de complejos (Nikinmaa, 2014).

Los factores ecológicos, fisiológicos y bioquímicos que pueden afectar las concentraciones de algunos elementos son: 1) localización geográfica, 2) rutas de entrada, 3) edad, 4) sexo, 5) tasa metabólica en los diferentes tejidos, 6) lugar de colecta, 7) toxicocinética. Las diferencias de asimilación e ingesta difieren entre las distintas especies de mamíferos marinos en relación con su peso, migración o estado fisiológico (Das et al., 2003; McHuron et al., 2012).

La fuente de contaminación por algunos elementos químicos puede ser tanto antropogénica como natural, y tratar de distinguir su origen es complicado. La entrada natural de elementos químicos en los ecosistemas marinos puede ser tan importante como la de origen antropogénico, ya que en algunas áreas, parece ser la principal fuente. Es decir, los mamíferos marinos han sido expuestos a dichos elementos desde antes del desarrollo de actividades humanas (Das et al., 2003).

Existen varias rutas de entrada de elementos en los mamíferos marinos: la absorción de la atmósfera a través de los pulmones, transferencia madre-cría durante el desarrollo embrionario y a través de la leche en la lactancia, la ingestión de agua de mar y la ingestión por alimentos (Das et al., 2003). Sin embargo, la principal vía de contaminación en mamíferos marinos parece ser a través de la alimentación (André et al., 1990).

El cadmio es uno de los elementos que se acumula fuertemente con la edad en la mayoría de los tejidos analizados en mamíferos marinos (Hamanaka et al., 1982; Honda et al., 1983a). Una de las razones se debe a la tasa de excreción del tejido analizado; por ejemplo, en el hígado su tasa es extremadamente baja. Este tipo de elementos esenciales son conocidos por aumentar sus concentraciones en tejidos sometidos a un rápido desarrollo y diferenciación (Baer y Thomas, 1991).

Por otra parte, se han observado concentraciones más altas de metales en individuos juveniles y recién nacidos de lobo marino de Steller (*Eumetopias jubatus*) y foca harpa (*Phoca groenlandica*) en comparación con individuos en muda o post muda. Lo que podría indicar que el pelo es una ruta excretora de algunos metales durante el desarrollo embrionario o en el destete, lo cual también implica que los recién nacidos tienen una tasa muy baja de excreción de estos elementos (Wagemann et al., 1988 ; Wagemann et al., 1998; Castellini et al., 2012).

Ciertas actividades reproductivas como la preñez, el parto y la lactancia pueden modificar los niveles de elementos químicos. Varios estudios han demostrado que la transferencia de metal de las hembras a las crías se produce a través de la placenta o la lactancia (Wagemann et al., 1988 ; Goyer, 1990). (Honda et al., 1987) reportaron una transferencia de las madres a las crías de ballenas Minke (*Balaenoptera acutorostrata*) de Fe, Pb y Ni. En consecuencia, estas concentraciones disminuyen en la en conforme madura una hembra y durante la gestación e incluso puede deberse a cambios hormonales.

El patrón de distribución de algunos elementos químicos en los organismos es específico para algunos tejidos. Por ejemplo, las concentraciones más altas de cadmio se encuentran por lo general en el riñón debido a la presencia de proteínas de unión al metal. Este patrón prevalece en la mayoría de las concentraciones de mamíferos marinos (Wagemann y Muir, 1984). Yamamoto et al. (1987) han estudiado la distribución de metales pesados en todo el organismo de focas de Weddell (*Leptonychotes weddell*) de la Antártida. Estos autores estimaron el total de metal corporal, a través de mediciones del peso de los diferentes tejidos y sus respectivas concentraciones. Sus resultados arrojaron que por ejemplo el cobre se

encuentra principalmente en los músculos y el hígado, y el cadmio en el hígado y riñón. (Civin-Aralar y Furness, 1991).

McHuron et al. (2012) encontraron que las muestras de pelo colectadas en diferentes partes del cuerpo (región dorsal media y región cervical lateral) en individuos de foca de puerto mostraron variabilidad en las concentraciones de Se. Dichos autores indican la necesidad de estandarizar la colecta de muestras, y recomiendan ser cauteloso al comparar estudios basados en las concentraciones de elementos traza en pelo con falta de estandarización en el lugar de colecta de la muestra, con especial énfasis en tendencias espacio-temporales.

La toxicocinética estudia cuantitativamente los procesos que experimenta, en función del tiempo, un xenobiótico (tóxico) en un organismo vivo. Una de las vías en las que un elemento puede ingresar en el organismo es durante el transporte medio-ambiente a través de los alimentos/agua, siendo la dieta una de las principales vías de exposición a estos elementos y otra vía importantes es cuando se altera la forma bioquímica de los elementos (Reijnders, 1994).

En el caso de los mamíferos marinos, éstos pueden estar parcialmente protegidos en contra de los efectos negativos de algunos elementos tóxicos, a través de mecanismos como la demetilación, excreción (orina, heces, pelo o lactancia), por la presencia de componentes como los ácidos grasos o interacciones con otros elementos, etc (Yang et al., 2008).

3.2.4 Estudios de elementos químicos en el pelo de *Phoca vitulina*

En el caso específico del pelo en la *Phoca vitulina*, se han reportado varios estudios que han medido las concentraciones de algunos elementos químicos en diferentes categorías de edad y para diferentes partes del mundo (Tabla 8).

Tabla 8. Concentraciones de elementos químicos en pelo de *Phoca vitulina* en poblaciones de diferentes partes del mundo.

Elemento químico	Concentración $\mu\text{g kg}^{-1}$	Edad/categoría	Lugar colecta	Año colecta	Autor
Ag	0.25	Juvenil	Mar del Norte, Países Bajos	2002	(Agusa et al., 2011b)
	0.84	Subadulto			
	1.3	Adulto			
As	1.1	Juvenil			
	0.5	Subadulto			
	0.3	Adulto			
V	0.13	Juvenil			
	0.11	Subadulto			
	0.22	Adulto			
Cu	20.4	Juvenil			
	24.6	Subadulto			
	18.2	Adulto			
Se	3.4	Juvenil			
	24	Subadulto			
	90	Adulto			
Cd	0.008	Juvenil			
	0.100	Subadulto			
	0.154	Adulto			
Sb	0.02	Juvenil			
	0.01	Subadulto			
	<0.01	Adulto			
Ba	0.017	Juvenil			
	0.016	Subadulto			
	0.013	Adulto			
Pb	0.143	Juvenil			
	0.054	Subadulto			
	0.085	Adulto			
Cd	0.09±0.03 ♂ 0.13±0.11 ♀	Crías	Costa oeste, norte de Alemania	1988	(Wenzel et al., 1993)
	0.17±0.12 ♂ 0.1±0.09 ♀	Adultos			
Pb	0.5±0.1 ♂ 1.1±0.8 ♀	Crías			
	0.6±0.3 ♂ 0.6±0.3 ♀	Adultos			
Se	0.6-6.74	>1 año	Bahía de San Francisco	2013	(McHuron et al., 2014)

3.2.5 Transferencia de elementos químicos madre-cría

La gestación en pinnípedos representa un costo muy significativo para las madres durante el ciclo reproductivo. Sin embargo, la dinámica de movilización y transferencia de elementos químicos asociados a las reservas de energía durante el proceso de gestación aún no está lo suficientemente entendida (Habran et al., 2013).

El lanugo en crías es un indicador de la transferencia placentaria, que revela la transferencia materna y la acumulación de ciertos elementos durante el desarrollo del feto (Ronald et al., 1984; Goyer, 1990; Noël et al., 2016). Algunos autores apuntan que la transferencia de madre a cría de ciertos elementos se hace principalmente a través de la placenta y en menor medida durante la lactancia, aunque la ingesta diaria de leche rica en grasa también puede contribuir a efectos adversos en la salud de las crías en estadios tempranos de su desarrollo (Habran et al., 2013).

Durante la lactancia, las hembras adultas dependen totalmente de su grasa corporal, para mantener su metabolismo y producir leche. Las concentraciones de ciertos elementos de la grasa materna aumentan durante la lactancia con la reducción del espesor de la capa de grasa corporal, lo que sugiere una menor movilización de estos elementos de la grasa de triglicéridos, en donde dominan este tipo de lípidos (Henderson et al., 1994). Sin embargo, los elementos potencialmente asociados a las reservas de lípidos parecen moverse de distintas maneras. Al comienzo de la lactancia, los elementos se distribuyen homogéneamente a través de todo el grosor de la capa de grasa. En un estudio realizado por Habran et al. (2013) en crías de elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) se encontró que durante la lactancia, las concentraciones de algunos elementos, por ejemplo Ca, Fe, Zn, Cu, aumentaron significativamente más en la grasa interior que en la grasa exterior en la lactancia tardía. En contraste, las concentraciones de otros elementos como el V, Cr, Ni, Pb también aumentaron durante la lactancia, pero se mantuvieron distribuidos de manera similar entre la grasa interior y exterior. Los ácidos grasos se movilaron principalmente de la capa de grasa interna durante este período, mientras que la parte externa siguió siendo más estable (Strandberg et al., 2008).

A través de un estudio hecho en parejas madre-cría de foca harpa (*Phoca groenlandica*) se sabe que el proceso de transferencia de metales madre-cría durante la gestación y lactancia depende del tipo de metal, además de que las metalotioneínas juegan un papel crucial en este proceso, p.e el mercurio es adquirido por la cría en la gestación, el cobre y el zinc se han encontrado en concentraciones más altas en crías que en las madres, mientras que el selenio es transferido en proporción directa de la madre a la cría,

de manera contraria el cadmio no mostró ser transferido a través de la placenta (Wagemann et al., 1988) contrariamente a lo encontrado por Ronald et al. (1984) quienes detectaron Cd, Hg, Se y Cu en individuos neonatales lo que indicó la transferencias trasplacentaria y transmamaria en esta especie.

3.3 Hipótesis

1. Las concentraciones de cada elemento químico en el pelo de las focas de puerto es diferente entre las colonias estudiadas debido a que en esta matriz se reflejan procesos biogeoquímicos y eventos oceanográficos propias de cada sitio, y un tipo de dieta diferente en cada colonia.
2. Isla San Roque presenta las concentraciones más altas de cadmio debido a que las presas que conforman su dieta son principalmente de hábitat bentónico-demersal, y a su influencia por eventos de surgencia.
3. Isla Todos Santos y el Estero de Punta Banda presentan mayores concentraciones de As, Cu, Pb, Sb, Se y V en comparación con las otras colonias debido a su cercanía con las descargas residuales de San Diego, Tijuana, Ensenada y Maneadero, así como por el uso de fertilizantes.
4. Existen correlaciones positivas y negativas significativas entre algunos elementos químicos, que permiten conocer su comportamiento antagónico o sinérgico. Se-As son antagonistas, el Se como micronutriente promueve la excreción de As del organismo.

3.4. Objetivos

3.4.1 Objetivo general

Determinar las concentraciones de Ag, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Pb, Sb, Se, V y Zn en pelo de crías de *P.v. richardii* pertenecientes a cinco sitios representativos de su distribución en México: islas Todos Santos, San Roque, San Jerónimo, Natividad y el Estero de Punta Banda, en la temporada reproductiva 2015.

3.4.2 Objetivos específicos

- 1) Determinar si las concentraciones de cada elemento químico son diferentes entre las colonias mexicanas.
- 2) Correlacionar los valores de las concentraciones entre cada elemento químico para establecer relaciones positivas o negativas entre ellos (evidenciar comportamientos sinérgicos o antagónicos).

3.5 Metodología

3.5.1 Área de estudio y su relación con los elementos químicos

Los sitios de estudio se encuentran distribuidos a lo largo de la costa occidental de la Península de Baja California, de norte a sur: Isla Todos Santos, Estero Punta Banda, Isla San Jerónimo, Isla Natividad e Isla San Roque (Figura 3). El núcleo de la Corriente de California que forma parte del Sistema de la Corriente de California pasa a unos 200 km frente a la costa de Baja California, transportando aguas frías y ricas en nutrientes (Durazo et al., 2005).

En cuanto a contaminación, la costa noroccidental de Baja California, se encuentra al sur de una zona muy industrializada, y es impactada por las descargas de aguas residuales de Point Loma en San Diego, California, y la de Punta Bandera en Tijuana, Baja California.

La planta de Point Loma es de tratamiento avanzado que libera sus aguas de desecho a través de un emisor submarino que descarga a 7.2 km de la costa y a una profundidad de 93 m. La planta de tratamiento de Punta Bandera cuenta con sistema de tratamiento secundario. Esta planta libera, a cielo abierto y sobre la línea de costa, un flujo promedio de 130×10^6 litros/día de desechos líquidos y una cantidad aproximada de 6,000 toneladas de sólidos suspendidos anualmente.

En la zona fronteriza de California, Estados Unidos-Baja California, México, se han identificado diversas fuentes de contaminación como descargas de aguas residuales, dragado de materiales en puerto y descargas de agua resultado del enfriamiento de turbinas para plantas termoeléctricas (Nishikawa et al., 1988). Existe un problema de contaminación del agua en esta región originada principalmente en la zona del río Tijuana-Arroyo Alamar, lo cual se debe principalmente a los escurrimientos superficiales de las aguas residuales generadas por asentamientos humanos (Vela-González, 1996).

En muestras de agua cerca de El Porvenir, en el Valle de Guadalupe, se detectaron concentraciones altas de Cu ($4.4 \mu\text{g g}^{-1}$) y Se ($70 \mu\text{g g}^{-1}$), elementos comúnmente derivados de fertilizantes agrícolas (Daesslé et al., 2006), usados en la industria vinícola de México. Otros elementos que se utilizan en la zona en fertilizantes agrícolas son el As, Cd, Hg y Pb (Rodríguez Ortiz et al., 2014).

3.5.2. Procesamiento de las muestras

3.5.2.1. Colecta de muestras

Se colectaron 138 muestras de pelo de crías de foca de puerto del Pacífico de aproximadamente de dos a cuatro semanas de edad, pertenecientes a cinco colonias mexicanas distribuidas a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (Isla Todos Santos, $n=39$; Estero de Punta Banda, $n=12$; Isla San Jerónimo, $n=29$; Isla Natividad, $n=27$; Isla San Roque, $n=31$) durante la temporada de crianza (enero a abril) de 2015. Se rasuró un parche de aproximadamente $10 \times 10 \text{ cm}$, evitando la eliminación del folículo piloso, en la parte dorsal baja de cada cría con la ayuda de una rasuradora con cuchilla de acero inoxidable de la marca *Oster*[®], la cual se limpió en cada toma de muestra con acetona y aire comprimido para evitar su contaminación. Cada muestra de pelo pesó entre 3-5 g de peso húmedo, y fue colocada en sobres. Este proceso fue mínimamente invasivo y siguió los protocolos establecidos para su precisión, exactitud y confiabilidad (Bass et al., 2001).

3.5.2.2. Lavado de muestras

Cada muestra de pelo se lavó con acetona (RA ACS. Modelo 9006) y agua bidestilada (NANOpure Modelo D4751, Barnstead International) de tres a cinco veces para eliminar los residuos de sal, grasa y arena. Posteriormente se colocaron en un horno a 60°C durante 12h para eliminar el exceso de humedad.

3.5.2.3. Procesamiento en laboratorio

Digestión

Se pesaron 0.5 g de la muestra con la ayuda de navecillas, para posteriormente pasarlas a tubos donde se les adicionaron 5 ml de HNO₃ concentrado al 70% (EMSURE® ACS) y 2ml de H₂O₂ al 30% (Perhydrol®). Los tubos se dispusieron en un rotor (14 tubos), donde en el tubo uno estaba el blanco (que no contiene muestra), dos tubos con estándares y una muestra repetida, con el fin de tener un buen sistema de calibración. Después se colocaron en un horno de microondas CEM-MDS (modelo MARS 5x 12044), con el siguiente programa:

Tabla 9. Fase de operación del horno de microondas para la digestión

Etapa	Temperatura	Potencia	Tiempo
1 Elevación	0-160°	0-1200 W	10 min
2 Mantenimiento	160°	1200-600 W	10 min
3 Enfriamiento	160-0°	600-0 W	5 min

Una vez terminado el proceso de digestión, cada solución se vació en tubos pre-esterilizados de 50 ml y se aforaron a un volumen de 20 ml con agua desionizada. Los ácidos utilizados para la digestión fueron de grado metal traza. Tanto el HNO₃ como el H₂O₂ son agentes oxidantes. El primero es el más comúnmente usado para digerir muestras orgánicas, ya que disuelve la mayoría de los metales, formando nitratos solubles. En cuanto al H₂O₂, cuando se le adiciona HNO₃, reduce el vapor nitroso y acelera la digestión de las muestras orgánicas, lo que aumenta la temperatura y ayuda a digerir los lípidos recalcitrantes.

Detección de los elementos

La determinación de la concentración de cada elemento se realizó con un espectrómetro de emisión óptica (HORIBA modelo ULTIMA 2) en el laboratorio de Espectrofotometría de Absorción Atómica del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), en la Paz, Baja California Sur, México. Los límites de detección para estos metales fueron de 0.01 µg g⁻¹.

Calibración

Para calibrar el equipo se realizaron curvas de calibración, en donde se utilizó un blanco (HNO_3 al 20% v/v) y soluciones estándar de concentración conocida del elemento a medir. Para verificar la pureza de los reactivos y la posible contaminación de cada ciclo, se incluyó un blanco usando el mismo procedimiento utilizado para las muestras de pelo.

Control de calidad

Se utilizó el Material de Referencia Certificado No.13 (CRM No.13), del Instituto Nacional para Estudios Ambientales (INES, National Institute for Environmental Studies) de Japón con el fin de evaluar el rendimiento del método analítico, el cual proviene de una muestra de pelo humano con una concentración conocida para diferentes elementos. Sus valores certificados se muestran en la Tabla 11 y los valores de referencia en la Tabla 12.

Tabla 10. Valores certificados de los elementos en el pelo humano (Material Certificado No.13 del INES) \pm desviación estándar expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco.

Constituyente	Concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco)
Cd	0.23 \pm 0.03
Cu	15.3 \pm 1.3
Pb	4.6 \pm 0.4
Sb	0.042 \pm 0.008
Se	1.79 \pm 0.17
Zn	172 \pm 11

Tabla 11. Valores de referencia de los elementos en el pelo humano (Material Certificado No.13 de la INES) en $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco.

Constituyente	Concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco)
Al	120
As	0.10
Ba	2.0
Ca	820
Co	0.07
Fe	140
Mg	160

El porcentaje de recuperación para cada elemento, obtenido a partir de la concentración del material de referencia certificado, concordó con el valor certificado.

Para cada corrida de cada elemento se realizó una prueba con material de referencia para determinar el porcentaje de recuperación del procedimiento. Al mismo tiempo, se realizó una prueba de un blanco (adicionando los ácidos utilizados en la digestión), para calcular el error que pudiera haber por contaminación al agregar los ácidos.

3.5.3 Análisis estadístico

Para observar la variabilidad de los datos en cada uno de los sitios para cada elemento traza se realizó un análisis exploratorio mediante gráficas de cajas y bigotes.

Para saber si existieron diferencias significativas en las concentraciones de los elementos químicos en los cinco sitios de estudio, se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis con su posterior prueba Dunn con método de ajuste Bonferroni (Dinno, 2017), debido a que los datos no mostraron normalidad mediante la prueba Kolmogorov-Smirnov ni tampoco fueron homogéneas sus varianzas, evaluadas a través de la prueba de Levene.

Para conocer la asociación o interdependencia entre cada elemento químico se realizó una matriz de correlación, en la que se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman (Coeficiente de Spearman ρ) para medir el grado de relación lineal que existe entre dos elementos. Si ρ es igual a cero no existe correlación lineal entre esos dos elementos, pero si el valor de ρ es igual o cercano a uno indica que existe una correlación lineal entre esos dos elementos. La significancia estadística se estableció en un valor $p < 0.05$.

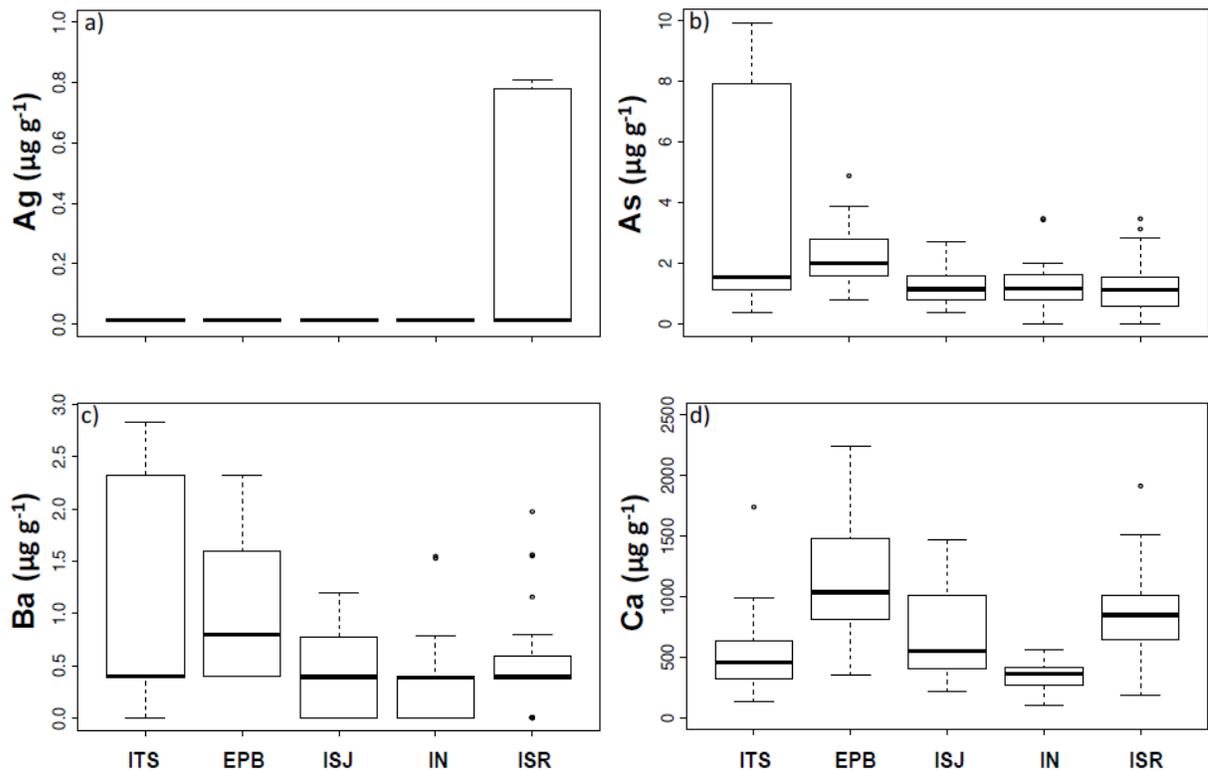
3.5.4 Evaluación del grado de toxicidad

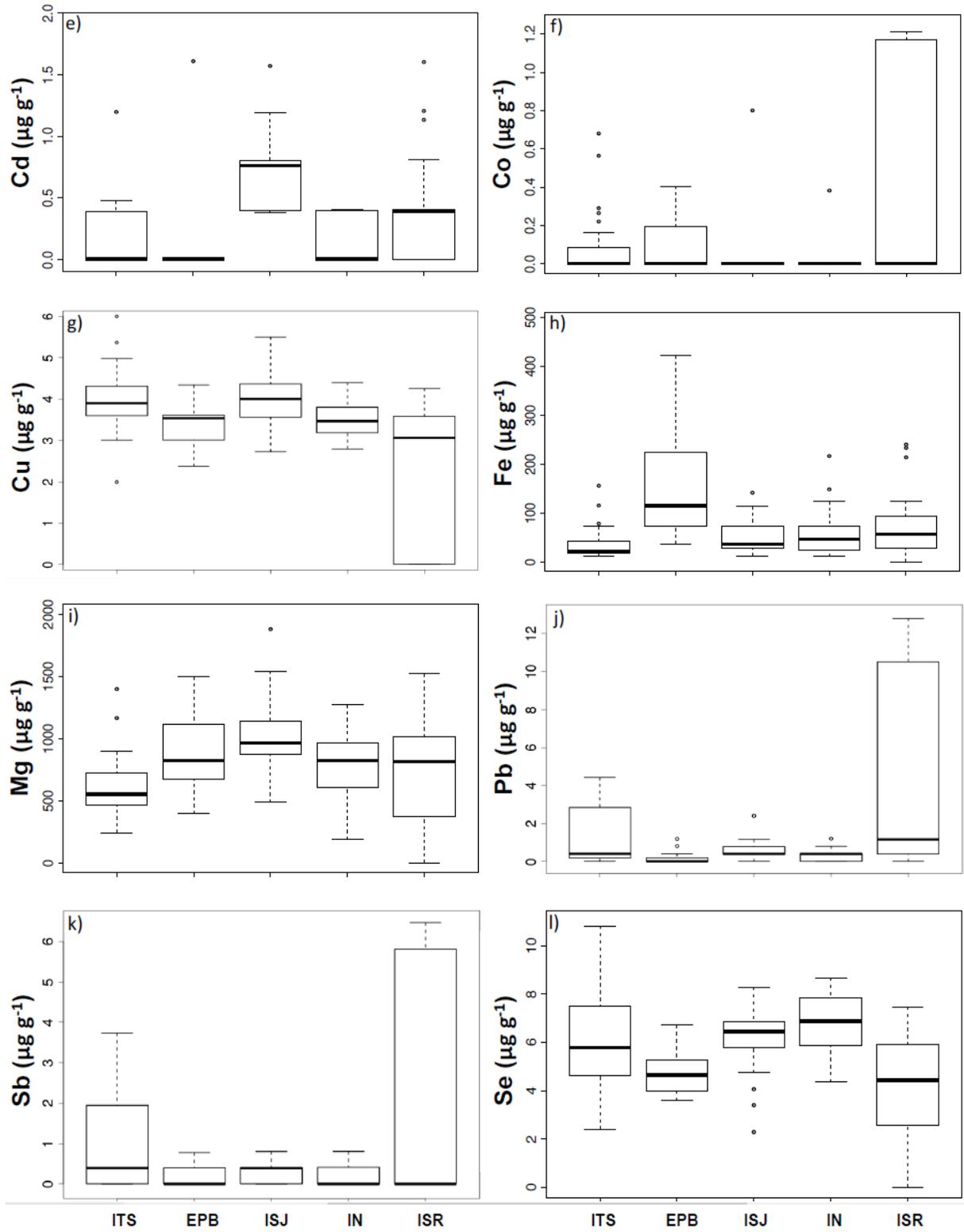
Para saber si las concentraciones de cada elemento en las crías de foca de cada colonia de México se encontraban en un rango normal o en cierto grado de toxicidad, sólo se referenciaron con los valores reportados en otros mamíferos marinos, pese a que existen en las normas oficiales mexicanas valores límites máximos permisibles para el agua o productos del mar, que son las medidas de las concentraciones de los elementos químicos que al ser excedidas causan o pueden causar daños a la salud o al ambiente. Lo

anterior debido a que cada tejido tienen sus propios niveles “normales” o basales y los órdenes de magnitud de sus concentraciones podrían variar de tejido a tejido.

3.6. Resultados

Se analizó un total de 138 muestras de pelo de cría de foca de puerto del Pacífico colectadas en Isla Todos Santos (ITS), Estero Punta Banda (EPB), Isla San Jerónimo (ISJ), Isla Natividad (ISN), e Isla San Roque (ISR). Para conocer la variabilidad de cada una de las concentraciones de los elementos químicos en el pelo de las crías se presentan gráficas de cajas y bigotes de las concentraciones de cada elemento (Figura 8). En la Tabla 12 se muestran los valores promedio de las concentraciones ($\mu\text{g g}^{-1}$) en peso seco (p.s.) de los elementos químicos estudiados: plata (Ag), arsénico (As), bario (Ba), calcio (Ca), cadmio (Cd), Cobre (Cu), Cobalto (Co), Hierro (Fe), Magnesio (Mg), plomo (Pb), antimonio (Sb), selenio (Se), vanadio (V), zinc (Zn) y su desviación estándar (DS).





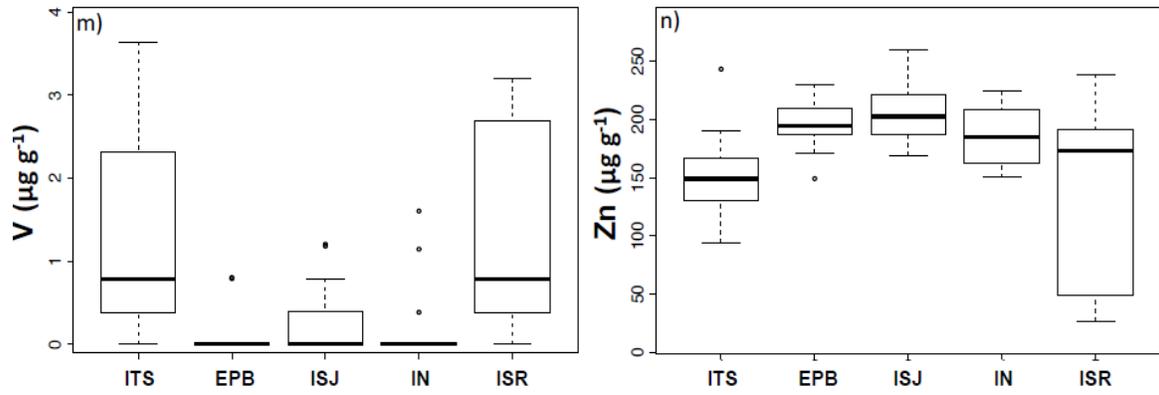


Figura 8. Concentraciones de elementos químicos a) Ag, b) As, c) Ba, d) Ca, e) Cd, f) Co, g) Cu, h) Fe, i) Mg, j) Pb, k) Sb, l) Se, m) V y n) Zn en el pelo de las crías de foca de puerto del Pacífico en las colonias mexicanas Isla Todos Santos (ITS), Estero Punta Banda (EPB), Isla San Jerónimo (ISJ), Isla Natividad (ISN), e Isla San Roque (ISR). La línea en negra representa la mediana, la parte inferior del cuadro es el primer cuartil (25% de los datos), el tercer cuartil separa el 75% de los datos, las líneas discontinuas anteriores son los límites de los bigotes y los valores extremos (datos atípicos) se muestran en círculos.

3.6.1 Variabilidad espacial de las concentraciones de elementos químicos

Plata (Ag)

El único sitio que presentó plata fue ISR (Figura 8 y Tabla 12), y por tanto fue diferente a los demás sitios de estudio (KW: $H=44.91$, $gl= 4$, $p <0.001$). El valor máximo alcanzado en este sitio fue de $0.81 \mu\text{g g}^{-1}$, mientras que en los demás sitios su concentración fue menor al límite de detección del equipo ($<0.01 \mu\text{g g}^{-1}$).

Arsénico (As)

El valor promedio de As para todos los sitios de estudio fue de $1.98 \mu\text{g g}^{-1}$. Sin embargo, en ITS fue mayor la variabilidad en sus concentraciones, con un valor máximo de $9.94 \mu\text{g g}^{-1}$. Existieron diferencias significativas entre los sitios estudiados (KW: $H=17.06$, $gl= 4$, $p <0.05$), específicamente ITS e ISR fueron diferentes (Dunn-test: $Z=-2.87$, $p=0.04$), al igual que el EPB e ISR (Dunn-test: $Z=2.99$, $p=0.02$).

Bario (Ba)

El valor promedio de Ba para todos los sitios de estudio fue de $0.78 \mu\text{g g}^{-1}$. En ITS se reportaron las concentraciones con mayor variabilidad. Existieron diferencias significativas entre los sitios de estudio (KW: $H=16.912$, $gl= 4$, $p <0.001$). En particular, el EPB fue diferente de IN (Dunn-test: $Z=-3.52$, $p=0.004$), e ITS de IN (Dunn-test: $Z=-2.90$, $p=0.036$).

Calcio (Ca)

El valor promedio de Ca en todos los sitios de estudio fue de $671.93 \mu\text{g g}^{-1}$, con un rango de 103.57 como valor mínimo y un valor máximo de $4289 \mu\text{g g}^{-1}$ presentado por un individuo perteneciente al EPB. Existieron diferencias significativas entre todas las colonias (KW: $H=46.463$, $gl= 4$, $p <0.001$), y en particular ITS-EPB (Dunn-test: $Z=4.017$, $p <0.001$), ITS-ISR (Dunn-test: $Z=3.770$, $p <0.001$), EPB-IN (Dunn-test: $Z=-5.294$, $p <0.001$), ISJ-IN (Dunn-test: $Z=-3.765$, $p <0.001$) y entre IN-ISR (Dunn-test: $Z=-5.386$, $p <0.001$).

Cadmio (Cd)

El valor promedio de Cd para todos los sitios de estudio fue de $0.354 \mu\text{g g}^{-1}$. Existieron diferencias significativas entre los sitios de estudio (KW: $H=45.17$ $gl= 4$, $p < 0.001$). ITS fue diferente de ISJ (Dunn-test: $Z=-4.134$, $p < 0.001$) y de IN (Dunn-test: $Z=4.073$, $p < 0.001$), así como EPB fue diferente de ISJ (Dunn-test: $Z=-4.391$, $p < 0.001$) y de IN (Dunn-test: $Z=4.362$, $p < 0.001$), ISJ también mostró diferencias con ISR (Dunn-test: $Z=3.344$, $p < 0.001$) y finalmente IN e ISR también fueron diferentes (Dunn-test: $Z=-3.306$, $p < 0.001$).

Cobalto (Co)

El valor promedio de Co para todos los sitios de estudio fue de $0.142 \mu\text{g g}^{-1}$. El valor máximo fue de $1.21 \mu\text{g g}^{-1}$, presentado en ISR. Existieron diferencias significativas entre las colonias (KW: $H=22.525$, $gl= 4$, $p < 0.001$). Estas diferencias se reportaron entre las siguientes colonias: ITS e ISR (Dunn-test: $Z=-5.353$, $p < 0.001$) y entre ISJ-ISR (Dunn-test: $Z=5.253$, $p < 0.001$).

Cobre (Cu)

El valor promedio de Cu para todos los sitios de estudio fue de $3.39 \mu\text{g g}^{-1}$. El valor máximo fue de $6.0 \mu\text{g g}^{-1}$, registrado para ITS. Las diferencias significativas (KW: $H=39.803$, $gl= 4$, $p < 0.001$) entre las colonias en este metal fueron las siguientes: ITS-IN (Dunn-test: $Z=-2.647$, $p=0.044$), ITS-ISR (Dunn-test: $Z=-5.353$, $p < 0.001$), ISJ-IN (Dunn-test: $Z=3.344$, $p < 0.001$) y entre ISJ-ISR (Dunn-test: $Z=5.253$, $p < 0.001$).

Hierro (Fe)

El valor promedio de Fe para todos los sitios de estudio fue de $71.87 \mu\text{g g}^{-1}$. El valor máximo fue de $783.1 \mu\text{g g}^{-1}$, presentado en ISR. Existieron diferencias significativas entre las colonias (KW: $H=29.686$, $gl= 4$, $p < 0.001$). Las diferencias fueron entre los siguiente sitios: ITS y EPB (Dunn-test: $Z=-2.300$ $p < 0.001$), EPB e IN (Dunn-test: 0.278 $p=0.005$), ITS-ISJ (Dunn-test: $Z=0.281$, $p=0.032$), ITS-ISR (Dunn-test: $Z=5.353$, $p < 0.001$) y entre ISJ e ISR (Dunn-test: $Z=5.253$, $p < 0.001$).

Magnesio (Mg)

El valor promedio de Mg para todos los sitios de estudio fue de $780.7 \mu\text{g g}^{-1}$. El valor máximo fue de $1879.5 \mu\text{g g}^{-1}$, presentado en ISJ. Existieron diferencias significativas entre las colonias (KW: $H=34.878$,

gl= 4, $p < 0.001$). Las diferencias significativas estuvieron presentes entre los siguientes sitios: ITS-EPB (Dunn-test: $Z=2.888$, $p=0.038$), ITS-ISJ (Dunn-test: $Z=5.734$, $p < 0.001$), ITS-IN (Dunn-test: $Z=3.317$, $p=0.009$) y entre ISJ-ISR (Dunn-test: $Z=2.965$, $p=0.030$).

Plomo (Pb)

El valor promedio de Pb para todos los sitios de estudio fue de $1.58 \mu\text{g g}^{-1}$. El valor máximo fue de $12.79 \mu\text{g g}^{-1}$, presentado en ISR. Existieron diferencias significativas entre las colonias (KW: $H=18.616$, $gl= 4$, $p < 0.001$), las cuales estuvieron presentes entre los siguientes sitios: EPB-ISR (Dunn-test: $Z=-3.778$, $p=0.001$) y entre IN-ISR (Dunn-test: $Z=-3.145$, $p=0.016$).

Antimonio (Sb)

El valor promedio de Sb para todos los sitios de estudio fue de $0.88 \mu\text{g g}^{-1}$. El valor máximo fue de $6.47 \mu\text{g g}^{-1}$, presentado en ISR. Hubo diferencias significativas entre todas las colonias (KW: $H=5.4583$, $gl= 4$, $p < 0.001$), y entre IN-ISR (Dunn-test: $Z=3.883$, $p=0.001$).

Selenio (Se)

El valor promedio de Se para todos los sitios de estudio fue de $5.738 \mu\text{g g}^{-1}$. El valor máximo fue de $16.99 \mu\text{g g}^{-1}$, presentado en ITS. Existieron diferencias significativas entre las colonias (KW: $H=31.817$, $gl= 4$, $p = 0.039$), las cuales estuvieron presentes entre los siguientes sitios: ITS-IN (Dunn-test: $Z=-2.922$, $p=0.034$), ISJ-IN (Dunn-test: $Z=-5.377$, $p < 0.001$) y entre ISJ-ISR (Dunn-test: $Z=5.117$, $p < 0.001$).

Vanadio (V)

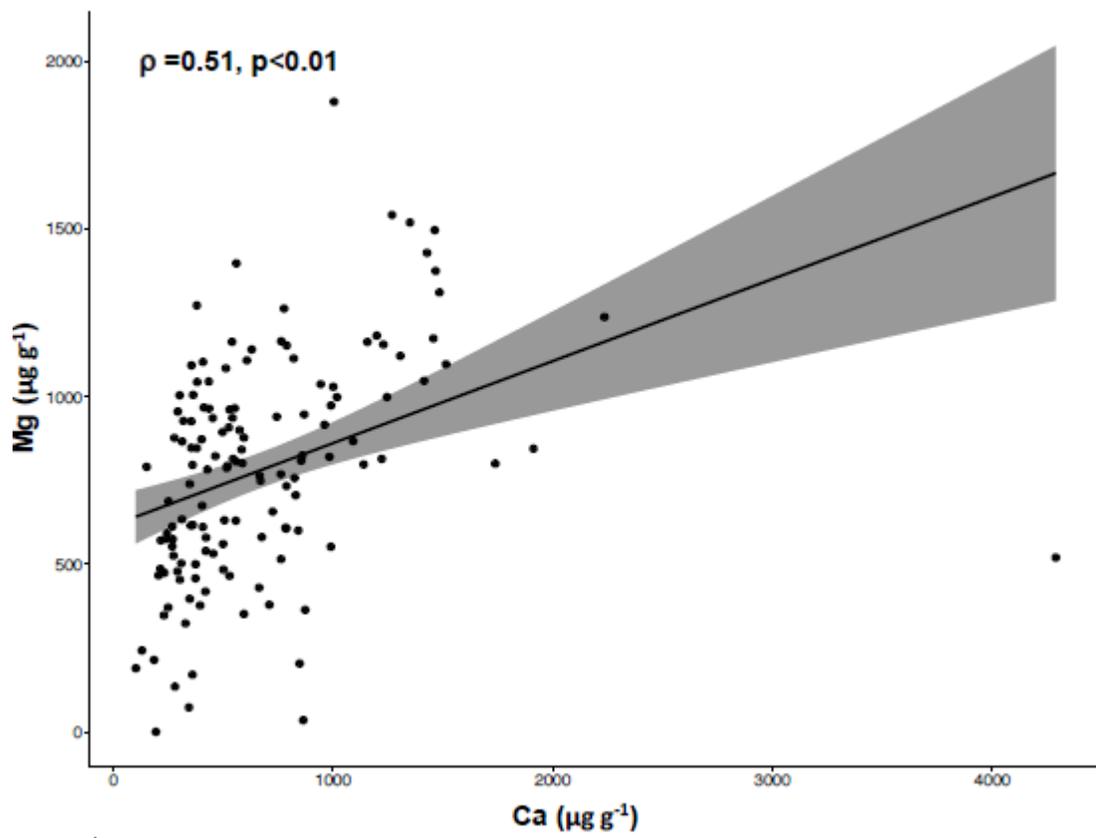
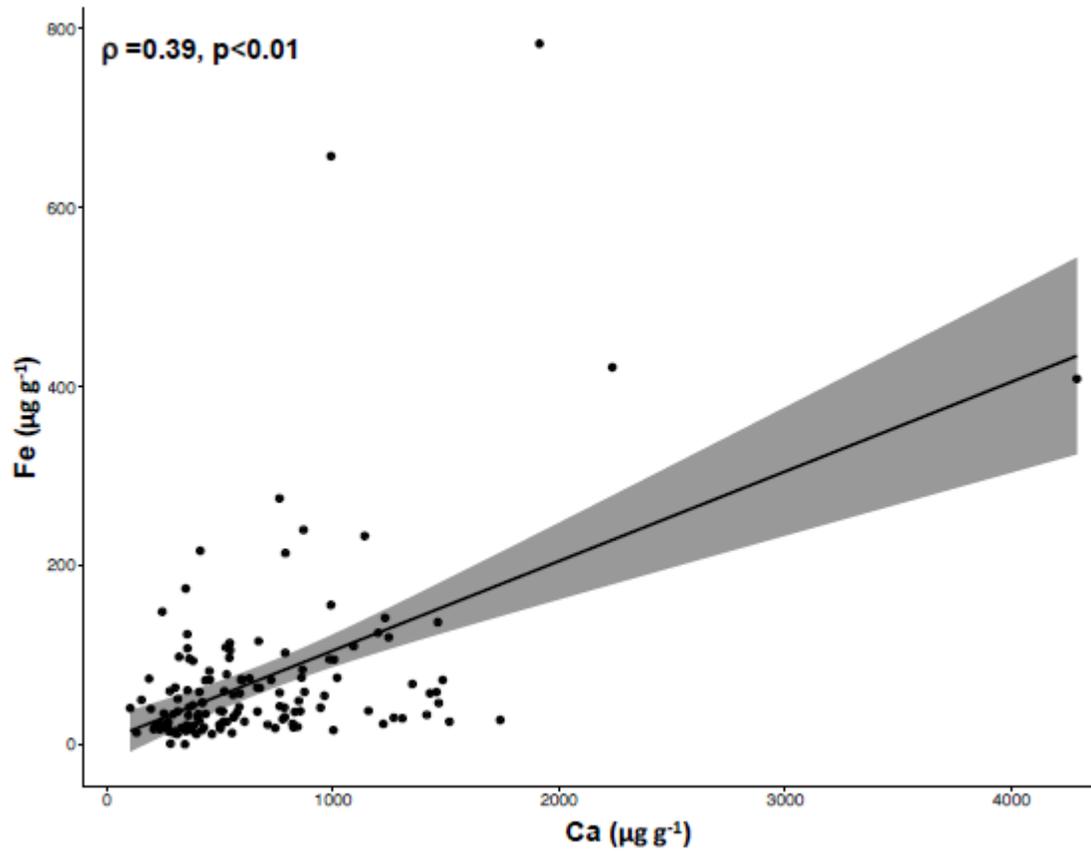
El valor promedio de V para todos los sitios de estudio fue de $0.73 \mu\text{g g}^{-1}$. El valor máximo fue de $3.64 \mu\text{g g}^{-1}$, presentado en ITS. Existieron diferencias significativas entre las colonias (KW: $H=47.147$, $gl= 4$, $p < 0.001$), las cuales estuvieron presentes entre los siguientes sitios: ITS-EPB (Dunn-test: $Z=-4.576$, $p < 0.001$), ITS-ISJ (Dunn-test: $Z=-3.388$, $p=0.007$), ITS-ISR (Dunn-test: $Z=-2.744$, $p=$) y entre EPB-ISR (Dunn-test: $Z=$, $p=0.048$).

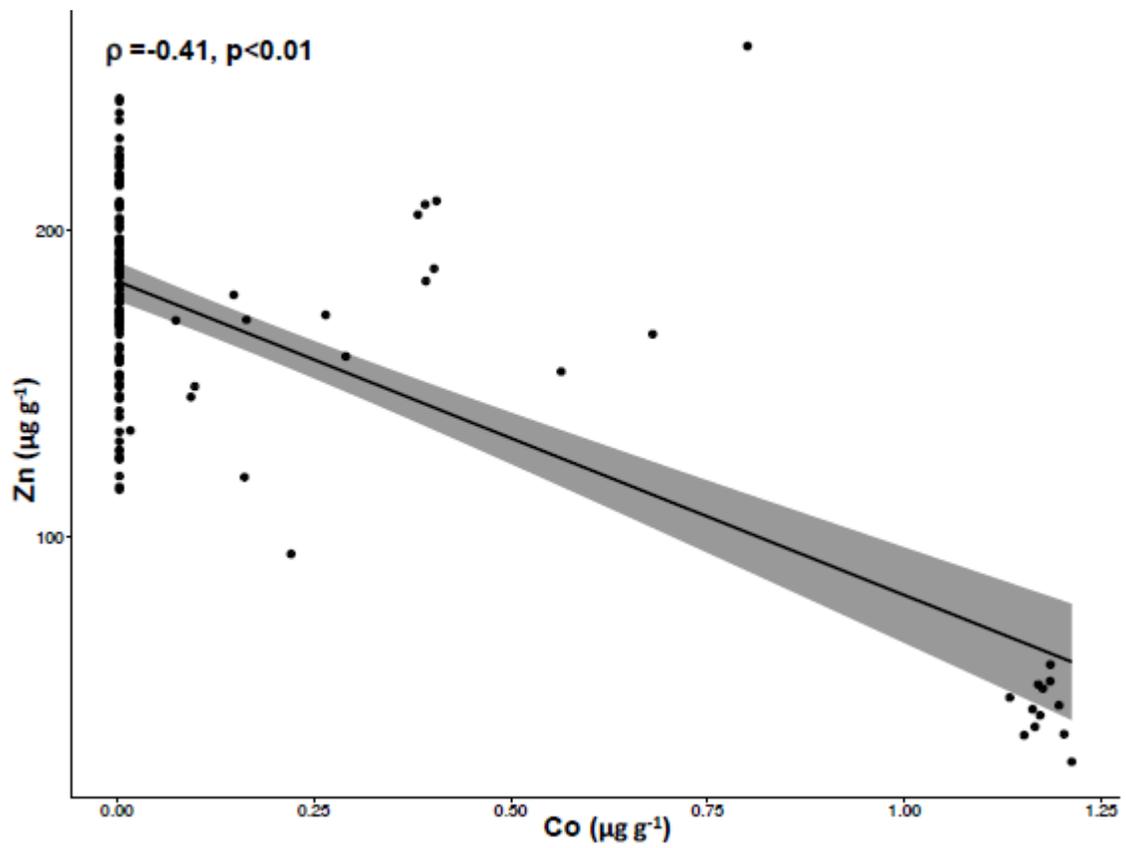
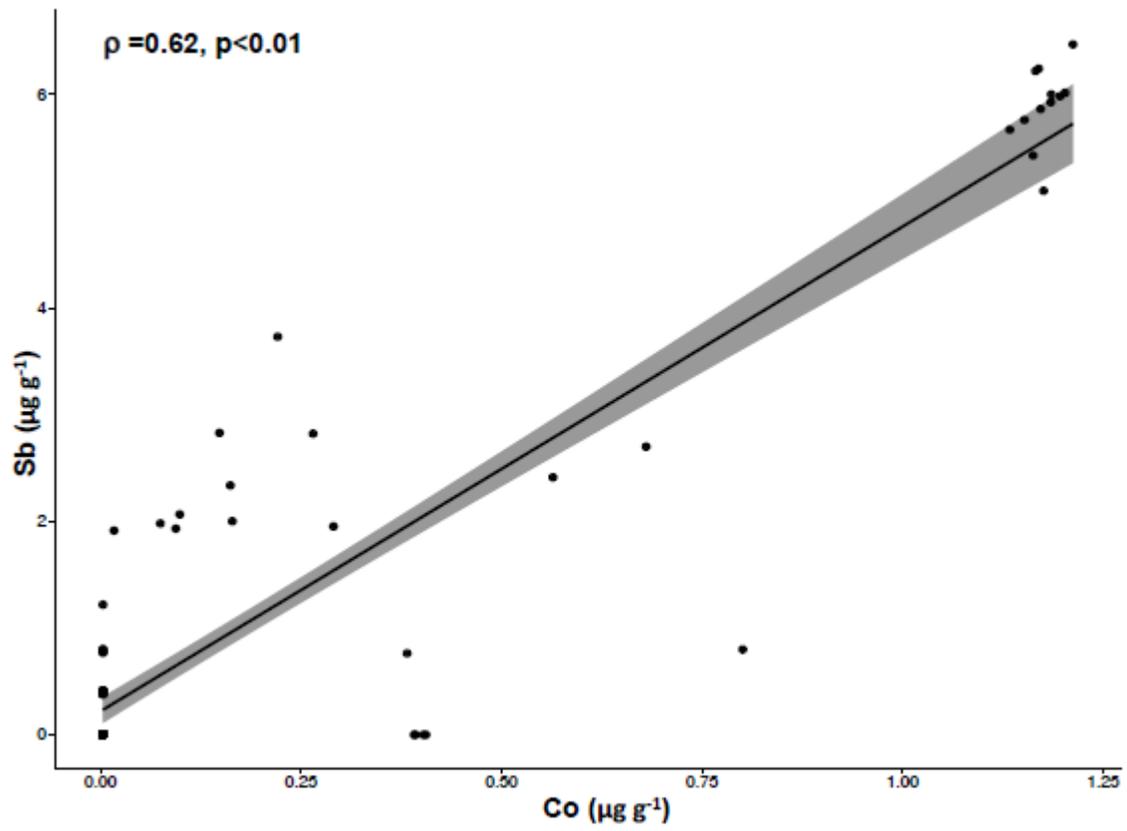
Zinc (Zn)

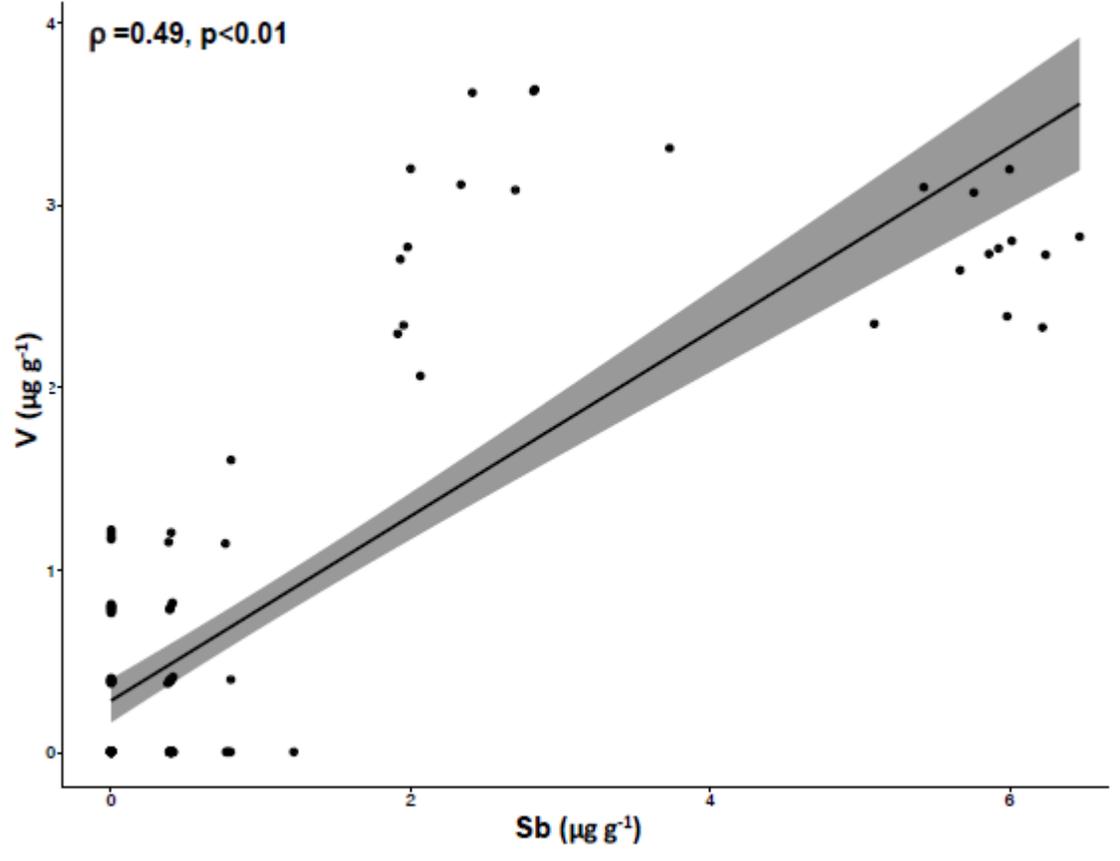
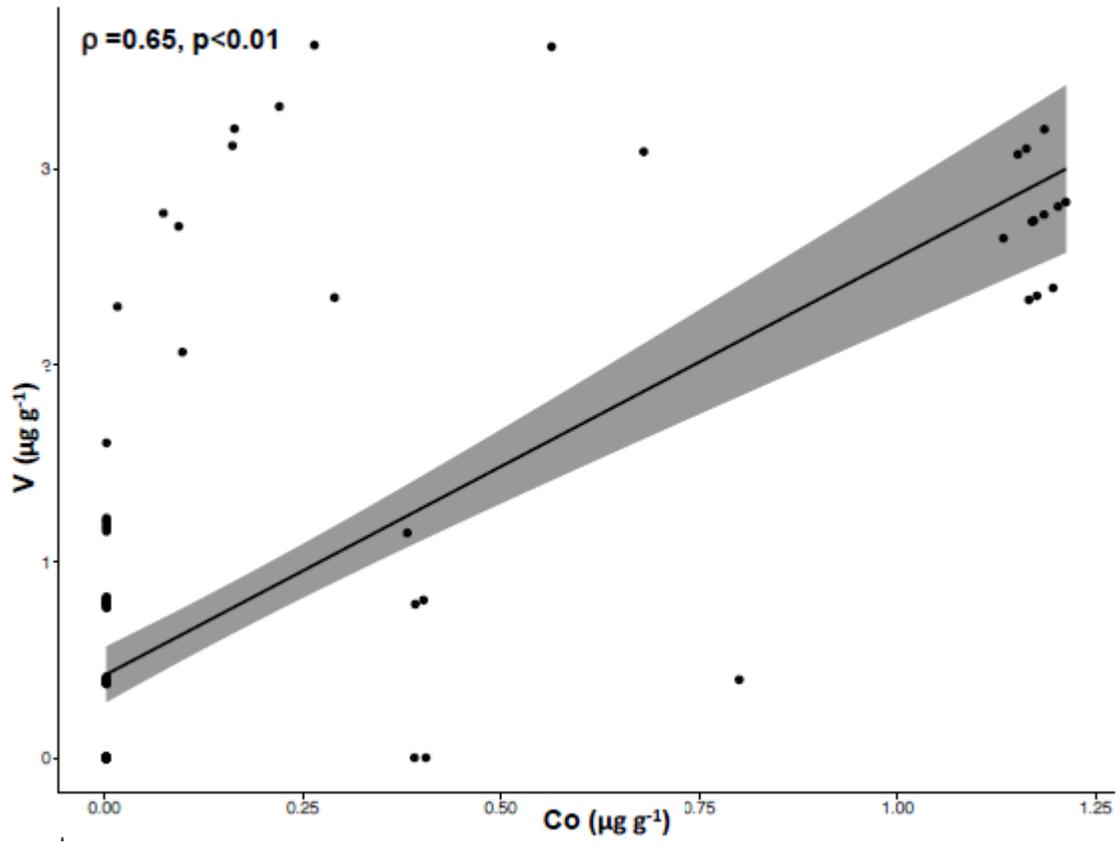
El valor promedio de Zn para todos los sitios de estudio fue de $168.7 \mu\text{g g}^{-1}$. El rango de valores fue de $26.67 \mu\text{g g}^{-1}$ como valor mínimo en ISR y como valor máximo de $260.2 \mu\text{g g}^{-1}$ presentado en ISJ. Existieron diferencias significativas entre las colonias (KW: $H=52.587$, $gl=4$, $p<0.001$), las cuales estuvieron presentes entre los siguientes sitios: ITS-ISJ (Dunn-test: $Z=6.826$, $p<0.001$), ITS-ISR (Dunn-test: $Z=4.666$, $p<0.001$), EPB-ISJ (Dunn-test: $Z=-3.880$, $p=0.001$) y entre IN-ISJ (Dunn-test: $Z=-4.305$, $p<0.001$).

3.6.2 Correlación entre elementos químicos

Para conocer la asociación o interdependencia entre cada elemento químico se realizó una matriz de correlación (Tabla 13) y se procedió a graficar sólo aquellos elementos cuya correlación fue significativa ($p<0.05$), y cuyos coeficientes de correlación (ρ de Spearman) fueron $\rho > 0.39$ (resaltado en negrita y color rojo), con el fin de conocer el tipo de asociación positiva o negativa. Los elementos correlacionados positivamente fueron: Ca-Fe, Ca-Mg, Co-Sb, Sb-V y Co-V y los elementos que estuvieron correlacionados negativamente fueron: Co-Zn y V-Zn (Figura 9).







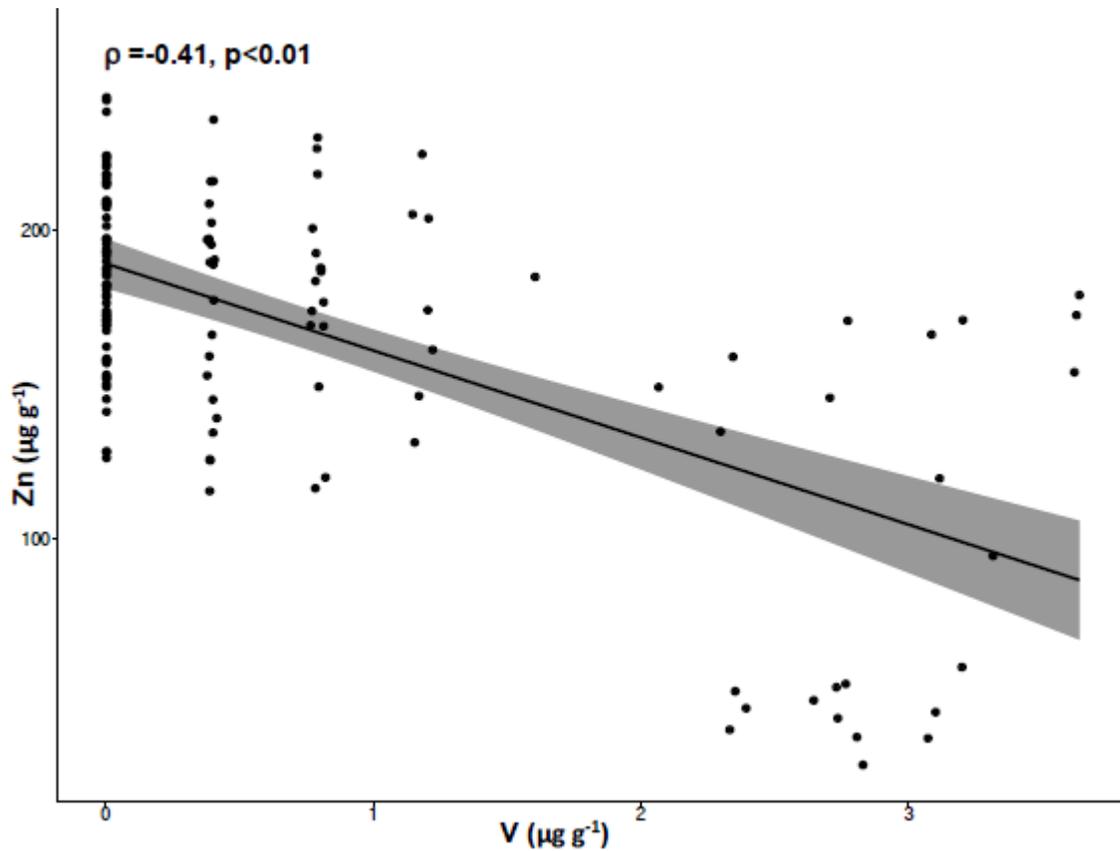


Figura 9. Correlaciones positivas entre Ca-Fe, Ca-Mg, Co-Sb, Co-Zn, Co-V y negativas entre Sb-V y V-Zn

3.7. Discusión

Todos los elementos químicos mostraron arreglos espaciales no uniformes. Esto probablemente se deba en parte a las diferencias en las condiciones locales biogeoquímicas de cada colonia, a la composición de las especies presas que conforman la dieta de las focas en cada sitio y a aportes antropogénicos en las zonas de estudio.

Debido a lo anterior y con la finalidad de conocer las posibles causas naturales de la variabilidad en las concentraciones de elementos químicos en las focas de puerto en colonias mexicanas, se discuten cada uno de los elementos por separado y su comparación con los valores de las concentraciones de los mismos elementos químicos de pelo de *Phoca vitulina* de otros lugares. Además se investigaron cuáles son los procesos biogeoquímicos y eventos oceanográficos locales en la literatura y se revisaron las presas consumidas por las focas a través del estudio de Durazo-Rodríguez (2015).

Para conocer las posibles causas no naturales de las concentraciones de elementos químicos en el área de estudio se hizo una revisión bibliográfica de las actividades antropogénicas en las diferentes colonias y para determinar el grado de toxicidad de las concentraciones de elementos químicos en las focas de puerto del Pacífico en México se compararon con los valores de los límites máximos permisibles y con las concentraciones de elementos químicos en otros mamíferos marinos; lo cual sirvió para referenciar toxicológicamente los valores de las concentraciones de las focas de puerto en México y para saber si el pelo fue buen bioindicador ecotoxicológico, al compararlo con otras matrices orgánicas diferentes.

3.7.1 Análisis por elemento

Ag

Para la plata se reportan valores de $0.25 \mu\text{g kg}^{-1}$ en pelo de individuos juveniles de *Phoca vitulina* del Mar del Norte, con una clara tendencia a incrementarse conforme a la edad (en adultos llegan a tener concentraciones de $1.3 \mu\text{g kg}^{-1}$); lo que podría indicar que este elemento se bioacumula (Agusa et al., 2011a). Aunque para las focas de puerto en México no se tuvieron valores para diferentes categorías de edad, los valores reportados para focas del Mar del Norte fueron muy similares a las crías de focas de ISR ($0.31 \mu\text{g kg}^{-1}$), a diferencia de las demás colonias mexicanas que tuvieron en promedio $0.01 \mu\text{g kg}^{-1}$ de Ag. Cabe resaltar que el Mar del Norte ha sido clasificado como uno de los más contaminados a nivel mundial principalmente por petróleo, descargas residuales y tráfico marítimo (Camphuysen y Volvaard, 2016). No obstante también se ha reportado que parte de la plata puede tener un origen natural sedimentario proveniente del valle Outer Silver Pit en el lecho del Mar del Norte (De Haas et al., 1997).

En relación con la dieta, la Ag tiene una alta afinidad por ligandos de azufre y halógenos en el agua y sedimentos, por lo que puede acumularse en la red alimentaria bentónica (Bell y Kramer, 1999). Los cefalópodos, bivalvos y crustáceos pueden acumular Ag en altas concentraciones, generalmente junto con cobre, ya que es necesario por algunas especies como el átomo central en su pigmento sanguíneo (hemocianina) (Rouleau et al., 2000). Hasta ahora no se han reportado valores de concentraciones de plata en peces en el Pacífico norte. Además, aunque en su forma iónica, la plata (Ag^+) es altamente tóxica para los peces (concentración letal del 96% al 50% [LC50]: rango bajo de μg^{-1}), las concentraciones de Ag^+ en ambientes acuáticos son extremadamente bajas y las demás formas más comunes de plata han mostrado

toxicidades de bajas a moderadas (p.e. el tiosulfato de plata $> 100,000 \mu\text{g Ag L}^{-1}$; cloruros de plata $> 100 \mu\text{g Ag L}^{-1}$) (Hogstrand y Wood, 1998).

Existen pocos estudios que han medido plata en pelo de mamíferos marinos, la mayoría de ellos la han medido en el hígado o riñón. En belugas (*Delphinapterus leucas*), Mackey et al. (1996), reportaron un rango de valores de $6-40 \mu\text{g g}^{-1}$ con un valor extremo de $107 \mu\text{g g}^{-1}$, además de no encontrarles relación con daño a su salud o toxicidad. Sin embargo, Becker et al. (1995) plantearon que a altas concentraciones la plata podría afectar los sistemas de enzimas captadoras de radicales. Hasta ahora se sabe que la plata juega un papel importante en imitar la deficiencia de Se en animales con vitamina E limitada, formando un complejo Se-Ag insoluble (Hammond y Beliles, 1980). No obstante, las vías metabólicas de la plata en el sistema de mamíferos marinos son aún desconocidas.

En este trabajo sólo fue detectable este elemento en ISR, contrario a lo esperado, que en ITS y EPB presentaran concentraciones más altas debido a la cercanía a plantas de tratamiento de aguas residuales en el norte de la península de Baja California y a los escurrimientos superficiales de las aguas residuales generadas por asentamientos humanos (Vela-González, 1996).

Las concentraciones en foca están por arriba de aquellas encontradas en pelo de adultos de entre 7 y 14 años de lobos finos del norte (0.049 and $0.046 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), de la costa del Pacífico del norte de Japón (Saeki et al., 2001); son un poco menores de aquellas reportadas en otros órganos como el hígado: $0.3 \mu\text{g g}^{-1}$ para el lobo fino del norte (*Callorhinus ursinus*), de $0.57 \mu\text{g g}^{-1}$ para el lobo marino de Steller (*Eumetopias jubatus*), y $0.43 \mu\text{g g}^{-1}$ en foca de puerto, lo cual podría sugerir que en otros órganos acumulan más Ag que el pelo, aunque los mecanismos y rutas metabólicas no estudiadas en el presente nos limitan para llegar a esas conclusiones (Saeki et al., 2001). Agusa et al. (2011a) la reportan que la plata se puede bioacumular, y aumentan con la edad, ellos encontraron valores en hígado de individuos de foca de puerto del Mar del Norte de 0.25 , 0.84 , y $1.3 \mu\text{g g}^{-1}$ de juveniles, subadultos y adultos, respectivamente. Aunque las concentraciones de la foca de puerto en México sólo se detectaron en ISR, sus valores no representan preocupación para ser tóxicas ($0.3 \mu\text{g g}^{-1}$). Sin embargo, su bioacumulación con la edad podría representar un problema en individuos más viejos, por lo que se recomienda monitorear diferentes categorías de edad.

Sin embargo, para evaluar correctamente el estado actual de la especie con respecto a la contaminación por este metal se deben realizar más monitoreos de los niveles de este elemento para

entender su comportamiento y distribución en el ambiente, así como sus rutas metabólicas a nivel de organismo.

As

Para el arsénico, en individuos en focas de puerto juveniles del Mar del Norte la concentración en pelo fue de $1.1 \mu\text{g kg}^{-1}$, con concentraciones menores ($0.3 \mu\text{g kg}^{-1}$) en adultos (Agusa et al., 2011a). En comparación, las focas de ITS y EPB tuvieron concentraciones muy por encima (3.47 y $2.29 \mu\text{g kg}^{-1}$), de las concentraciones de las focas del Mar del Norte, pero con valores a la baja en las colonias sureñas (ISR: $1.2 \mu\text{g kg}^{-1}$).

En cuanto a la influencia geográfica, una de las fuentes naturales son las ventilas hidrotermales que están asociadas a la actividad volcánica en los espacios entre las placas tectónicas, donde se han documentado que altas concentraciones de As están biodisponibles para los organismos bentónicos cerca de estas fisuras en el piso oceánico (Villanueva-Estrada et al., 2013).

A pesar de que el arsénico ha sido poco estudiado y con poca consideración como contaminante para algunas especies de mamíferos marinos o para los propios consumidores de tejido de ballena (el pueblo inuit en el Ártico), en este estudio encontramos concentraciones mayores en el pelo de las focas de puerto (promedio $1.98 \mu\text{g g}^{-1}$, máximo $9.94 \mu\text{g g}^{-1}$) con respecto a las reportadas en grasa (rango 0.005 – $1.92 \mu\text{g g}^{-1}$) en la ballena boreal (*Balaena mysticetus*) (Bratton et al., 1997), o en la epidermis (promedio $0.08 \mu\text{g g}^{-1}$) (Wagemann et al., 1983); y aunque como habíamos mencionado anteriormente no es correcto comparar diferentes tipos de tejido, en general las concentraciones de arsénico en cualquier tipo de tejido en mamíferos marinos raramente exceden 1mg kg^{-1} (Furness, 2017). Los valores de arsénico obtenidos en esta investigación representan los primeros valores de referencia para esta subespecie en México.

Ba

Entre las colonias mexicanas se presentaron diferencias en las concentraciones de Ba, con una tendencia de norte a sur a la baja (1.19 a $0.32 \mu\text{g kg}^{-1}$) con máximos en ITS y EPB y mínimos en ISR, lo que podría inferirse como un posible indicador de contaminación en esos sitios. Las concentraciones de Ba reportadas para foca de puerto del Mar del Norte en focas juveniles fueron de $0.017 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Agusa et al., 2011b), muy inferiores en comparación con las colonias de México.

En el presente trabajo el valor promedio de Ba, tomando en cuenta todas las colonias, fue de $0.78 \mu\text{g g}^{-1}$, aunque tuvo un valor máximo de $17.1 \mu\text{g g}^{-1}$ en ISJ, los valores promedio más altos estuvieron en ITS y EPB (1.06 y $1.19 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente). Los valores altos de Ba han sido relacionados con los procesos bioquímicos que llevan a la formación de sulfato de bario (barita) en la columna de agua, se ha encontrado una fuerte correlación entre el contenido de nutrientes y la concentración de Ba (Dehairs et al., 1980), donde éste incrementa con la profundidad (Burton y Price, 1990), debido a la advección de barita originalmente precipitada en regiones biológicamente productivas (Moore y Dymond, 1991). Las focas de México que tuvieron en promedio $0.78 \mu\text{g kg}^{-1}$ y a pesar de que son más altas que aquellas reportadas en otras partes del mundo y en otras especies, no alcanzan a sobrepasar los límites máximos permisibles para considerarse tóxicas.

Ca

No hay estudios que hayan medido Ca hasta el momento en focas de puerto, por lo que el presente es el primero en medirlas. Las focas del EPB ($1358.24 \mu\text{g kg}^{-1}$) fueron las que tuvieron la mayor concentración de este elemento, seguido por ISR e ISJ.

La concentración de Ca está positivamente relacionada con la concentración de proteína total en vertebrados (Dierauf y Gulland, 2001). Existen casos de dieta para manatíes en Florida que se alimentaban con fórmulas ricas en Ca y P (fósforo), en donde observaron mejoras en el éxito reproductivo (White y Francis-Floyd, 1990). En un análisis de bioquímica tomada a tursiones (*Tursiops truncatus*) en vida libre, las concentraciones de Ca fueron de $8.2-9.4 \text{ mg dl}^{-1}$ (White y Francis-Floyd, 1990). En comparación con un estudio hecho por Lander et al. (2003) de rehabilitación de crías de *P. v. richardii* en California, las recién ingresadas tuvieron concentraciones de 10.3 mg dl^{-1} y después de ser liberadas de 8.9 mg dl^{-1} . A pesar de que estos datos nos aportan un valor de referencia no nos permite concluir si éstas son normales para las focas de México.

Cd

Para el cadmio se han reportado concentraciones en pelo de foca de puerto de categoría juvenil de $0.008 \mu\text{g kg}^{-1}$ para el Mar del Norte (Agusa et al., 2011a), pero para la costa oeste de Alemania en crías fue de $0.09 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Wenzel et al., 1993), las focas mexicanas presentaron concentraciones diferentes en cada colonia, el promedio más alto lo presentó ISJ ($0.77 \mu\text{g kg}^{-1}$) y el más bajo EPB ($0.13 \mu\text{g kg}^{-1}$). Estas concentraciones están por arriba de aquellas encontradas en otras poblaciones fuera de México en la

misma matriz (pelo), a excepción de un trabajo de la costa del mar del Norte, en Alemania, en el cual las concentraciones de Cd en hígado de individuos adultos de *Phoca vitulina* fue de $1 \mu\text{g g}^{-1}$, y además se reportó como una concentración más baja que la encontrada para otros pinnípedos en el área debido a que las focas consumen presas de un menor nivel trófico (Drescher et al., 1977). Lo anterior también podría indicarnos que el hígado es un órgano más detoxificante que el pelo (Brookens et al., 2007).

Otra posible explicación de las concentraciones más altas de Cd en ISJ e ISR, se deben a que en estas regiones a finales de marzo los eventos de surgencias son fuertes (Baumgartner et al., 2008). Fuera de esta temporada, el Cd tiene comportamiento de tipo nutriente, donde en la superficie las concentraciones son muy bajas, pero a mayor profundidad eleva su concentración. Sin embargo, cuando hay surgencias, este elemento y otros nutrientes como el fósforo y los nitratos son acarreados del fondo hacia la superficie (Bruland et al., 1978).

Aunque se esperaban concentraciones más altas para EPB por ser la colonia más costera y con mayores aportes antropogénicos, posiblemente las altas concentraciones de Cd en ISJ se deban al tipo de dieta, con una alta frecuencia de consumo de pulpos (Durazo-Rodríguez, 2015). En general, se podría considerar que todas las colonias mexicanas tienen altos niveles de Cd, esto debido probablemente a que el hábitat de las presas preferenciales de la foca de puerto en estos sitios es bentónico-demersal. Alrededor del 60% de la composición de la dieta en ITS es de peces rocotes (*Sebastes* spp.) y peces lagartos (*Synodus lucioceps*), en ISJ aproximadamente el 40% de su dieta es de rocotes y pulpos (*Octopus* sp.), en IN el 70% de la dieta es de peces lenguados (*Citharichtys* spp) y pulpos y en ISR el 80% es de peces lenguados, lagartos y pulpos.

El cadmio parece ser transferido a los niveles tróficos más altos de la cadena alimentaria marina principalmente por moluscos, especialmente cefalópodos, que concentran el cadmio en sus vísceras (Honda et al., 1983a; Bouquegneau y Joiris, 1988; Miles y Hills, 1994). Esto ha sido confirmado por estudios en calderones de aletas largas (*Globicephala melas*) que han concentrado cadmio en relación con una dieta preferencial de cefalópodos. Otros estudios han reportado niveles elevados de cadmio en morsas del Pacífico (*Odobenus rosmarus divergens*) de una población del Mar de Bering; además, es importante hacer notar que este estudio se realizó en una zona alejada de cualquier actividad industrial (Miles y Hills, 1994), lo cual refleja la importancia de la dieta en el análisis de concentraciones de elementos químicos. En trabajos donde han analizado las presas principales de la morsa en contenidos estomacales, se reporta la dieta principalmente a base de bivalvos, en donde la concentración de cadmio resultó muy alta, lo cual sugiere que *Mya* sp. podría ser una fuente de cadmio para la morsa (Miles y Hills, 1994). En un estudio en

lobos marinos de Steller adultos (*E. jubatus*) de la costa de Japón, tuvieron en promedio una concentración de Cd en el riñón de $20.9 \mu\text{g g}^{-1}$. Los autores mencionan que su concentración fue menor en comparación con otras especies como el lobo marino de California y el lobo fino del norte en la misma área, debido a que su dieta es principalmente a base de calamares (Hamanaka et al., 1982).

La investigación en cadmio en tejidos de mamíferos marinos ha cobrado una considerable importancia en los últimos años (Wagemann et al., 1990). Las tendencias temporales de cadmio como contaminante ambiental se superponen a las tendencias geoquímicas. Esto es particularmente claro en el caso de cadmio en el hielo de Groenlandia que, en comparación con hace unos miles de años, ahora está más de 200 veces más concentrado (Goyer, 1991). Su importancia radica en que puede formar el complejo cadmio-metalotioneína (CdMT) en las células epiteliales tubulares renales y tiene la posibilidad de inducir una nefrotoxicidad contrarrestada por el zinc, que tiene un efecto protector contra esta nefrotoxicidad inducida por CdMT (Liu et al., 1996).

Las concentraciones renales en focas anilladas (*Phoca hispida*) del Ártico alcanzaron niveles tan altos como $2000 \mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco (Dietz et al., 1998), lo cual representa una concentración crítica, ya que concentraciones $>800 \mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco ($200 \mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco) están asociadas con daño hepático y renal en mamíferos (OMS, 1992). Las disfunciones renales inducidas por cadmio se han mostrado con concentraciones de corteza renal del orden de $200 \mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco. Aún no se ha registrado ningún efecto tóxico mortal de cadmio en mamíferos marinos, a pesar de los altos niveles encontrados en varias especies, lo que sugiere mecanismos de detoxificación altamente eficientes (Dietz et al., 1998).

Para lobos marinos de California, se han reportado concentraciones de Cd de $1.01 \mu\text{g g}^{-1}$, lo cual está muy por debajo de concentraciones asociadas a daño renal ($1600 \mu\text{g g}^{-1}$) y hepático ($800 \mu\text{g g}^{-1}$) en mamíferos marinos (Law, 1996). Pinnípedos en el Ártico han mostrado valores superiores a los $1600 \mu\text{g g}^{-1}$ sin que hayan estado relacionados con daño patológico, lo que puede ser un indicativo de que depredadores tope pueden acumular grandes cantidades de Cd sin que se vea comprometida su salud (Dietz et al., 1996). En lobos marinos de Steller se han presentado concentraciones de $20.9 \mu\text{g g}^{-1}$ relativas a su dieta y no a niveles de toxicidad (Hamanaka et al., 1982). Este referente es superior al valor para las focas de puerto en colonias mexicanas, quienes mostraron valores máximos de $4.34 \mu\text{g g}^{-1}$ en ISJ. Aunado a que el promedio general entre todas las colonias de focas de puerto en México fue de $0.35 \mu\text{g g}^{-1}$, se puede concluir que aún tomando el valor máximo de Cd, éste no representa ninguna amenaza para las colonias.

Co

La concentración y distribución del Co en aguas costeras del Pacífico Mexicano se ha relacionado principalmente a procesos bénticos, incluyendo flujos difusivos y resuspensión de partículas (Sañudo-Wilhelmy et al., 1991). Para el EPB se han reportado concentraciones de Co en agua de $0.000075 \mu\text{g L}^{-1}$ en transectos costeros y para zonas a menos de 100 m de distancia de la costa, de $0.00016 \mu\text{g L}^{-1}$ (Sañudo-Wilhelmy et al., 1991). En este trabajo, las focas para este sitio tuvieron un valor de Co promedio de $0.10 \mu\text{g g}^{-1}$, presentándose sólo en tres individuos. Las colonias con mayores concentraciones de Co fueron ISR ($0.47 \mu\text{g kg}^{-1}$) y EPB ($0.10 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Uno de los pocos estudios que ha medido cobalto en mamíferos marinos ha sido en dugongos de la gran barrera arrecifal de Australia, con un rango de 0.5 a $72 \mu\text{g kg}^{-1}$ en hígado asociado a su hábitat en pastos marinos (Denton et al., 1980). Kakuschke et al. (2005) reportaron valores de la mediana para este elemento en sangre de focas de puerto adultas del Mar del Norte de $0.54 \mu\text{g/L}$. Por su parte, Agusa et al. (2011a) documentaron valores medios en pelo de focas de puerto, también del Mar del Norte, de $0.23 \mu\text{g g}^{-1}$. En el presente trabajo, el valor medio de la concentración en pelo de focas de puerto fue de $0.14 \mu\text{g g}^{-1}$. Por lo tanto, los valores de Co en focas en colonias mexicanas están por debajo de aquellos reportados para la misma especie en otras localidades. Es importante resaltar que sólo algunos individuos de ITS, EPB e ISR reportaron valores, en los otros sitios de estudio no se encontró Co. Lo anterior puede deberse a que el Co se ha correlacionado positivamente con el Cd, lo cual indica que las aguas bentónicas enriquecidas en Co son llevadas a la superficie por procesos de surgencia, como ocurre en otras partes del mundo (Saito et al., 2004; Saito et al., 2005). En ISR se tuvieron los valores más altos de Co ($0.47 \mu\text{g g}^{-1}$), lo cual podría ser resultado de las surgencias que se intensifican a finales del invierno y primavera (Gaxiola-Castro y Durazo, 2010), temporada en que se colectaron las muestras.

Cu

Es importante conocer los niveles de cobre en un organismo ya que es un elemento esencial, a bajas concentraciones puede indicar que un organismo está por debajo de sus condiciones óptimas de salud y a altas concentraciones podría estar implicado en fuentes antropogénicas como el uso de productos herbicidas (Furness, 2017). Para el cobre se reportó una concentración en juveniles de *Phoca vitulina* del Mar del Norte de $20.4 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Agusa et al., 2011b). Este elemento en las colonias mexicanas fue mucho menor a aquellas en ese sitio, probablemente debido a que el Mar del Norte es uno de los

lugares más contaminados del planeta (Vethaak y ap Rheinallt, 1992). La concentración promedio en colonias mexicanas de focas fue de $3.3 \mu\text{g kg}^{-1}$, siendo el sur (ISR) el sitio con la concentración más baja ($1.99 \mu\text{g kg}^{-1}$), y los del norte con las más altas ($3.96 \mu\text{g kg}^{-1}$ en ITS); esto corresponde con el patrón encontrado en fracciones sedimentarias por Villaescusa-Celaya et al. (2000) en la costa de Baja California en donde reportan una marcada influencia espacial desde la descarga de Punta Bandera ($22.7 \mu\text{g kg}^{-1}$) con una disminución hacia el sur ($15.1 \mu\text{g kg}^{-1}$) y hacia fuera de la costa ($11 \mu\text{g kg}^{-1}$) de Cu, además de la influencia aunque de menor magnitud por las descargas residuales de la planta de tratamiento en Point Loma ($17.2 \mu\text{g kg}^{-1}$).

En poblaciones en Massachusetts de tursiones se han reportado concentraciones en el hígado de $0.66 \mu\text{g g}^{-1}$ y en el riñón de $0.33 \mu\text{g g}^{-1}$, y en ballenas piloto en hígado ($0.25 \mu\text{g g}^{-1}$) (Meador et al., 1999). En cadáveres de manatíes en Florida, estuvieron presentes grandes cantidades de Cu, de alrededor de $1200 \mu\text{g g}^{-1}$ (pese a ajustes del efecto de la edad), muy probablemente asociado al uso de herbicidas en la zona, aunque no se pudo probar que la evidencia de su muerte haya sido por esta causa (O'Shea et al., 1995; Woshner et al., 2001b). Las concentraciones de crías de foca en colonias mexicanas tuvieron en promedio $3.39 \mu\text{g g}^{-1}$ y las concentraciones más altas se presentaron en ISJ e ITS, probablemente influenciadas por los productos utilizados en la acuicultura, herbicidas y fertilizantes en la zona, aunque no se tiene registro que los sulfatos de cobre y compuestos quelados de cobre, comúnmente utilizados en la acuicultura, causen efectos adversos cuando llegan al océano (Boyd y Massaut, 1999). Por lo tanto las concentraciones de cobre encontradas en este trabajo no pueden asociarse a efectos tóxicos en las focas.

Para el cobre se reportó en juveniles de *Phoca vitulina* del Mar del Norte una concentración de $20.4 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Agusa et al., 2011b). En las colonias mexicanas, este elemento fue mucho menor que en focas del Mar del Norte, probablemente debido a que es uno de los sitios más contaminados del planeta (Vethaak y ap Rheinallt, 1992). La concentración promedio en colonias mexicanas fue de $3.3 \mu\text{g kg}^{-1}$, siendo el sur (ISR) el sitio con la concentración más baja ($1.99 \mu\text{g kg}^{-1}$), y los del norte con las más altas ($3.96 \mu\text{g kg}^{-1}$ en ITS). Esto corresponde con el patrón encontrado en fracciones sedimentarias por Villaescusa-Celaya et al. (2000) en la costa de Baja California en donde reportan una marcada influencia espacial desde la descarga de Punta Bandera ($22.7 \mu\text{g kg}^{-1}$) con una disminución hacia el sur ($15.1 \mu\text{g kg}^{-1}$) y hacia fuera de la costa ($11 \mu\text{g kg}^{-1}$) de Cu, además de la influencia aunque de menor magnitud por las descargas residuales de la planta de tratamiento en Point Loma ($17.2 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Además de las descargas por plantas de tratamiento, en un estudio realizado en mejillones colectados desde el límite con EUA hasta Baja California Sur, encontraron que en San Quintín, donde existen campos agrícolas, el Cu tuvo las concentraciones más altas; esto se debe a que el Cu es uno de los componentes principales usados en fertilizantes (Gutiérrez-Galindo et al., 2014). Esto también explica que en ISJ, el sitio más cercano a San Quintín, se hayan encontrado los valores más altos de Cu en las colonias de focas en México ($3.99\mu\text{g kg}^{-1}$).

Las comparaciones con otras especies y la poca evidencia con relación a su salud o enfermedades reportadas en otras especies complica tener valores de referencia para considerar un rango de Cu como tóxico, aunque los valores encontrados en la foca de México están por debajo de aquellas reportadas en manatíes.

Fe

La abundancia y distribución de Fe en el Océano Pacífico pueden ser debidos a entradas atmosféricas, consumo biológico, a la remineralización y remoción de partículas, transporte físico y mezcla vertical (Huerta-Díaz et al., 2011). En particular, en la presencia de piritita en sedimentos en Guerrero Negro también es una fuente del Fe en esta zona (Huerta-Díaz et al., 2011), por lo que podríamos esperar concentraciones más altas de Fe en las focas de México, por aporte natural con respecto a otras partes del mundo.

La mayoría del hierro que se encuentra en los mamíferos está unido a las proteínas de hemoglobina, mioglobina y citocromo (Vos et al., 2002). El hierro restante está unido por otras proteínas al hierro (transferrina, lactoferrina y ferritina) o existe en pequeñas cantidades en forma libre. En cuanto a la salud, en una respuesta inflamatoria de fase aguda, el hierro es secuestrado por proteínas de unión al hierro, lo que hace que no esté disponible para los patógenos invasores y, por lo tanto, disminuye la posibilidad de infección. Se han descrito disminuciones similares en el hierro sérico para delfines con afecciones inflamatorias que involucran trauma, parasitismo, enfermedades infecciosas y trastornos metabólicos (McBain, 1996). Además, estos estudios demostraron que las tendencias en los niveles de hierro en suero eran importantes al evaluar la condición clínica y el pronóstico en mamíferos marinos, donde los rangos normales de hierro en los delfines fueron hierro sérico = 116 a 320 $\mu\text{g dl}^{-1}$ (Medway y Geraci, 1986). Desafortunadamente, no existen muchos trabajos que hayan medido este elemento en organismos de vida libre, en nuestro trabajo los sitios con mayores concentraciones de Fe fueron ITS y EPB

(35 y 165 $\mu\text{g gl}^{-1}$, respectivamente), lo cual se contraponen a lo encontrado por Fernández Martín (2018), quién encontró que las focas de ITS tienen un mayor aporte de hierro en sangre que las del EPB.

Mg

El Mg es un nutriente que se ha asociado con el estado corporal de un organismo, una deficiencia en este elemento provoca disfunciones cardíacas (Vos et al., 2002). De manera natural, se han encontrado grandes concentraciones de Mg en calcofitas de sedimentos a lo largo de Baja California (Potter y Rossman, 1979) y otra de las fuentes de Mg es por los esqueletos de los animales muertos. En el pelo de las focas de puerto encontramos gran variabilidad en este elemento entre las colonias, ISJ mostró los valores más grandes y los más bajos ITS, sin embargo no tenemos datos de concentraciones de Mg en mamíferos marinos en vida libre que nos permitan hacer una comparación ni otros parámetros de salud que nos ayuden a referenciar éstos valores en cuanto a la salud de las focas.

Pb

Para la costa oeste de Alemania la concentración de Pb en crías de foca de puerto fue de 0.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Wenzel et al., 1993). Estudios de plomo en la morsa del este del Ártico canadiense (*Odobenus rosmarus rosmarus*), mostraron que su principal fuente de plomo provenía de la ingesta de bivalvos (*Mya* sp. y *Serripes* sp.). Sin embargo, este estudio también demostró que los niveles actuales de Cd y Pb en estos mamíferos marinos muy probablemente son naturales, a pesar de las elevadas tasas de deposición de metales eólicos en estas regiones árticas. Esta incongruencia puede explicarse por el proceso de "biodepleción" (transferencia restringida) de metales antropogénicos a través de las redes alimentarias, que previamente se ha reportado en varias cadenas alimentarias marinas (Outridge et al., 1997).

Una fuente antropogénica probable de Pb es el enriquecimiento en sedimentos causado por el transporte atmosférico de las emisiones de motores de combustión, debido al tetraetil de plomo que se usaba como agente antidetonante en la gasolina en México (Páez-Osuna et al., 2002; Soto-Jimenez et al., 2006). El plomo no es un elemento esencial para ningún proceso biológico conocido. En el Océano Ártico se ha documentado la deposición de Pb debido al aumento de la actividad antropogénica (Ng y Patterson, 1981), pero las concentraciones actuales en los tejidos de los mamíferos marinos no han generado preocupación debido a su toxicidad. Las concentraciones más altas de Pb que se tienen registradas son para los manatíes en Chetumal, México ($128\mu\text{g g}^{-1}$), pero no se les relacionó con daño en la salud (Austrebertha y Morales-Vela, 1999). Las concentraciones que se encontraron en promedio en la focas en

México ($1.58 \mu\text{g g}^{-1}$) estuvieron muy por debajo de las encontradas en el estudio de Elorriaga-Verplancken y Auriolos-Gamboa (2008) quienes encontraron valores máximos de $128 \mu\text{g g}^{-1}$ en San Pedro Mártir en el lobo marino de California.

Sb

De los pocos trabajos que han medido el Sb en pelo de focas de puerto adultas del Mar del Norte está el de Agusa et al. (2011b), quienes reportan una concentración de $0.02 \mu\text{g kg}^{-1}$; desafortunadamente en este estudio no asocia esta concentración a ningún factor como edad, dieta o contaminación. En el caso de nuestra investigación, la concentración más alta de Sb se presentó en la colonia ISR ($2.2 \mu\text{g kg}^{-1}$) y la más baja en EPB ($0.2 \mu\text{g kg}^{-1}$) y aunque el antimonio está presente en el ambiente de manera natural, también hay actividades humanas que lo liberan. Al respecto, en la corteza terrestre, aunque existe en una concentración de 0.3 mg kg^{-1} , también puede ser el resultado de una actividad humana en la zona.

Se

Para el selenio se reportaron concentraciones en focas de puerto del Mar del Norte de 3.4, 20 y $90 \mu\text{g kg}^{-1}$ en juveniles, subadultos y adultos, respectivamente, las cuales estuvieron correlacionadas positivamente con la longitud del individuo (Agusa et al., 2011b), y en otras especies se ha reportado que esta correlacionado con la edad (Das et al., 2004b). En las focas de colonias mexicanas el promedio general fue de $5.7 \mu\text{g kg}^{-1}$, valor muy similar para las crías de foca de puerto de la Bahía de San Francisco cuya concentración fue de $0.6\text{-}6.74 \mu\text{g kg}^{-1}$ (McHuron et al., 2014). Además, en este estudio se descartó la influencia del sexo pero no de la ubicación geográfica, tiempo de exposición a este elemento, dieta y sobretodo la presencia de otros metales en el organismo como el mercurio (Hg) con quien puede formar complejos que ayudan al organismo a detoxificarlo (McHuron et al., 2014).

El valor promedio de Se para focas en colonias mexicanas fue de $5.7 \mu\text{g g}^{-1}$, el cual es mayor que lo reportado previamente en estudios hechos en la misma subespecie, pero en hígado ($0.75 \mu\text{g g}^{-1}$) (Brookens et al., 2007), y en la foca gris en sangre ($0.775 \mu\text{g g}^{-1}$) y en pelo ($2.975 \mu\text{g g}^{-1}$) (Habran et al., 2013). En el presente estudio, el valor más alto de Se se observó en IN ($6.79 \pm 1.21 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) y fue muy diferente a los valores que presentó el lobo marino de California en el Golfo de California (Elorriaga-Verplancken y Auriolos-Gamboa, 2008). Esta variabilidad puede atribuirse a la edad de las crías (2 a 5 meses), ya que se ha reportado que entre mayores sean los tiempos de lactancia, existe una mayor transferencia de metales de la madre a la cría (Goyer, 1990). Sin embargo, otros factores también pueden

estar influyendo en esta variabilidad, ya que se ha reportado que este elemento tiende a bioacumularse y biomagnificarse. Un aspecto importante en tener en cuenta es que las crías pueden acumular concentraciones de metales en mayor medida que los adultos (Wagemann et al., 1988).

Un referente de concentraciones en pelo de mamíferos pequeños terrestres y semiacuáticos que no se consideran letales se considera $<5 \mu\text{g g}^{-1}$; las concentraciones entre 5 y $10 \mu\text{g g}^{-1}$ se reportan en el límite de tolerancia, y concentraciones mayores a $10 \mu\text{g g}^{-1}$ son consideradas tóxicas (James et al., 1981). El valor de Se de las focas en México en promedio fue de $5.7 \mu\text{g g}^{-1}$, pero algunos individuos presentaron valores $>10 \mu\text{g g}^{-1}$ ($16.9 \mu\text{g g}^{-1}$) en ITS, lo que se consideraría tóxico. Sin embargo, en un estudio realizado por Fernández-Robledo (2015) en pelo de crías (2-5 meses) de lobo marino de California colectado en sitios del Pacífico norte y del Golfo de California, reportó concentraciones superiores a los $10 \mu\text{g g}^{-1}$ ($31.86 - 79.26 \mu\text{g g}^{-1}$). Dichas concentraciones no se consideraron tóxicas debido a que se sabe que depredadores tope acumulan este elemento y, aunque rebase los límites de toxicidad, probablemente sus altas concentraciones también sean influidas por sus necesidades fisiológicas (Woshner et al., 2001a), o por otros factores como edad, sexo y localidad (Das et al., 2002).

V

El vanadio es un elemento bastante abundante, sus fuentes incluyen petróleo crudo, perturbaciones geoquímicas, escorrentía terrestre, transporte atmosférico y filtración de petróleo local o regional (Chasteen, 1990).

Para el Vanadio se reportaron concentraciones en individuos juveniles de *Phoca vitulina* para el Mar del Norte de $0.13 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Agusa et al., 2011b). En comparación, las focas de puerto de colonias mexicanas mostraron valores muy similares en EPB ($0.13 \mu\text{g kg}^{-1}$) e ISJ ($0.12 \mu\text{g kg}^{-1}$), IN, pero diferentes en ITS e ISR, siendo en éstos sitios más altas (1.24 y $1.3 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente); probablemente esto se debe a la cercanía de ITS con descargas residuales.

En cuando a la dieta, se ha documentado la acumulación de V en organismos en niveles tróficos más bajos, y se ha demostrado que es 106 veces mayor para algunas ascidias (órdenes Aplousobranchia y Phlebobranchia) (Michibata y Sakurai, 1990). La ingestión de estos invertebrados puede conducir a una mayor exposición en los mamíferos marinos del Ártico (Mackey et al., 1996). La toxicidad del vanadio no parece ser un problema para los mamíferos marinos o para quienes los consumen (cazadores de subsistencia) (Mackey et al., 1996). La ingesta de ascidias y otros invertebrados bentónicos, puede

incrementar las concentraciones de este elemento, como lo reportado en la morsa, que tuvo concentraciones altas (Warburton, 1993).

Se ha documentado que el vanadio (V) se acumula a concentraciones relativamente altas en algunos mamíferos marinos, como es el caso de las belugas (*Delphinapterus leucas*) y de las focas anilladas (*Phoca hispida*) con el tamaño o la edad ($0.1-1.0 \mu\text{g g}^{-1}$). En especies de mamíferos marinos el vanadio se ha reportado en Alaska que se acumula en hígados de beluga ($0.03-0.19 \mu\text{g g}^{-1}$), focas anilladas ($0.019-0.47 \mu\text{g g}^{-1}$), y focas barbadas ($0.15-1.04 \mu\text{g g}^{-1}$). Esto podría reflejar una fuente dietética única, una fuente geoquímica o un aporte antropogénico al sistema marino en Alaska (Mackey et al., 1996). Se ha observado la acumulación hepática de V relacionada con la edad en tres especies de pinnípedos de la costa sueca (Frank et al., 1992) y cuatro especies de pinnípedos del Pacífico norte (Saeki et al., 1999a), en donde el 90% de la carga corporal de V se distribuyó en el hígado, pelo y huesos.

Para lobos marinos del norte de Japón (*Eumetopias jubatus*), en pelo se reportaron valores de $0.77 \mu\text{g g}^{-1}$ para machos y de $1.5 \mu\text{g g}^{-1}$ para hembras; se sugiere que el pelo es un mecanismo de excreción de este elemento (Saeki et al., 1999b). En la foca de puerto en México, encontramos que las concentraciones de V en promedio fueron de $0.73 \mu\text{g g}^{-1}$, que es muy similar a los reportado en otras especies de mamíferos marinos, aunque el valor máximo alcanzó los $3.64 \mu\text{g g}^{-1}$, lo que nos impide concluir si este es un valor que podría ser dañino para las focas. Por lo tanto se requiere más investigación para determinar las vías de exposición y el papel del vanadio en la salud.

Zn

Es un elemento esencial, pero en un estudio en mejillones realizado por Gutiérrez-Galindo et al. (2014) a lo largo de la costa oeste de Baja California, el Zn presentó su concentración más alta en San Quintín ($77.0 \mu\text{g kg}^{-1}$) por el uso de fertilizantes en sus campos agrícolas. Por lo que las concentraciones relativamente altas para las focas de ISJ ($204.3 \mu\text{g kg}^{-1}$) podrían estar influidas por el uso de fertilizantes en los campos agrícolas de San Quintín (distancia aproximada 86 km).

El zinc es un elemento esencial que hasta ahora no se ha reportado que se bioacumule en la cadena trófica. Las toxicosis o deficiencias de zinc se consideran poco probables en mamíferos marinos (citadas). Sin embargo, su interacción con otros elementos se ha reportado importante. En un estudio hecho en Brasil con delfines costeros (*Sotalia guianensis*) se reportan concentraciones de Zn de $100.13 \mu\text{g g}^{-1}$. Los autores apuntan a que estas concentraciones se deben principalmente a la dieta, hábitos costeros y edad de los

individuos muestreados (Lemos et al., 2013). En el lobo marino de Steller de la costa de Japón se midió Zn en individuos adultos, encontrando concentraciones en músculo ($103 \mu\text{g g}^{-1}$), hígado ($221 \mu\text{g g}^{-1}$) y riñón ($99 \mu\text{g g}^{-1}$), las cuales incrementaban con respecto a la edad (Hamanaka et al., 1982). Las focas de puerto de colonias mexicanas presentaron un promedio general de $168.7 \mu\text{g g}^{-1}$, el cual es un valor que está dentro del rango reportado para otros mamíferos sin que sea tóxico.

3.7.2 Correlación entre elementos químicos

Para conocer las interacciones entre cada uno de los elementos y poder elucidar la existencia de una interacción antagonista o sinérgica se realizaron correlaciones entre ellos (Figura 10, Tabla 13). El antagonismo se refiere a que la presencia de un elemento puede decrecer o anular la toxicidad de otro, por tanto uno de los efectos del antagonismo es la desintoxicación y el sinergismo ocurre cuando la presencia de dos elementos potencia el efecto del otro o la combinación de ambos provoca una mayor intensidad en el efecto (García-Barrera et al., 2012). Conocer este tipo de interacciones es importante porque afectan la biodisponibilidad en el organismo, así como los efectos en el cuerpo.

En el presente trabajo observamos correlaciones positivas significativas entre los siguientes elementos:

1. Ca-Fe
2. Ca-Mg
3. Co-Sb
4. Sb-V
5. Co-V

En mamíferos marinos pocos son los estudios sobre las relaciones entre elementos, la mayoría se enfocan en Se-Hg (Koeman et al., 1973) debido a la capacidad del Se de contrarrestar los efectos del

mercurio (Hg). Se han observado altos niveles de Hg en el riñón en osos polares sin presentar daños hepáticos y renales (Dietz et al., 2000).

Cabe destacar que, aunque algunas correlaciones fueron significativas ($p < 0.05$), no se discuten aquí, aunque hayan presentado un coeficiente de correlación relativamente alto p.e. Pb-Ag ($\rho = 0.49$), debido a que la distribución de sus datos atípica y sólo se presentaron en un sitio p.e. sólo en ISR. Sin embargo, se debe tener interés en su monitoreo, ya que algunos se han reportado en la literatura como tóxicos.

Los elementos implicados en las primeras dos correlaciones, **Ca, Fe y Mg** son elementos esenciales. La correlación Ca-Fe (Figura 10a), aunque fue significativa ($p < 0.05$), su coeficiente no fue tan alto, por lo que el grado de asociación de estos elementos no es tan fuerte. Sin embargo, posiblemente su comportamiento sea sinérgico, lo que implicaría que la presencia de ambos es necesaria para la salud y nutrición del individuo aunque en humanos la presencia de Ca puede inhibir la absorción de Fe (Lønnerdal, 2010). Por su parte, **Ca-Mg** se ha documentado tienen un comportamiento sinérgico y la ausencia de uno puede provocar la deficiencia del otro, ya que el Mg es fundamental para una serie de funciones celulares, como la fosforilación oxidativa, la glucólisis, la transcripción de ADN y la síntesis de proteínas. El Ca es el principal componente en los tejidos mineralizados, y es requerido para el desarrollo y crecimiento del esqueleto (Cashman y Flynn, 2007); por lo que una correlación positiva en estos dos elementos era esperada, debido a sus funciones vitales en los organismos.

La correlación **Co-Sb**, podría estar relacionada a contaminación, ya que ambos metales son utilizados en la industria. El cobalto es esencial para los organismos; sin embargo, los iones Co^{+2} son genotóxicos y cancerígenos; su exposición está relacionada con un mayor riesgo de cáncer de pulmón y con la inhibición de la reparación del ADN (De Boeck et al., 2003). El antimonio ha probado ser antagónico de otros metales al inhibir su efecto tóxico, p.e. Hg (Fu et al., 2011).

La correlación de **Zn y Co**, a pesar de ser significativa ($p < 0.05$), el coeficiente de correlación ($\rho = 0.41$), nos indica poca asociación entre ambos elementos. En la Figura 10f se observa que a mayores concentraciones de Co, las de Zn disminuyen; esto podría indicar que las concentraciones de Co pueden comprometer la adsorción de Zn en el organismo. Sin embargo, no existe información suficiente al respecto que nos ayude a corroborar esta hipótesis.

La correlación **V-Sb** resultó positiva, aunque con un coeficiente bajo ($\rho=0.49$). En cuanto al V existe relativamente poca literatura, a pesar de que se ha reportado como un elemento nutriente, asociado a acciones anticarcinogénicas (Thompson et al., 1984). Aunque sus emisiones en el ambiente se han incrementado por la quema de combustibles fósiles, no ha representado hasta el momento una preocupación de salud. El Sb es un elemento tóxico y relacionado con la carcinogénesis (Fu et al., 2011). Por lo tanto, la correlación positiva entre estos dos elementos podría ser un indicativo de contaminación.

Las correlaciones negativas en este trabajo estuvieron presentes en los siguientes elementos:

1. Co-Zn

2. V-Zn

Se han correlacionado el Zn-Cu en el hígado de oso polar (Norstrom et al., 1998), Zn-Cd en hígado y riñón de los cetáceos (Honda et al., 1983b) y en el riñón de belugas, focas anilladas, osos polares y narvales (Wagemann et al., 1983). En el presente estudio, el Zn estuvo correlacionado con el cobalto y vanadio; el Zn es un elemento nutriente y Co y V son elementos que han mostrado ser resultado de contaminación, por lo que se sugiere que el Zn podría verse afectado en su asimilación en el organismo en la presencia de estos contaminantes.

3.8 Conclusiones

- Existieron diferencias entre las concentraciones de los elementos químicos del pelo de las focas en las colonias de México, reflejo de procesos biogeoquímicos, hábitos alimentarios y aportes antropogénicos característicos de cada colonia.
- Las concentraciones de elementos químicos de las colonias mexicanas fueron diferentes a aquellas poblaciones de *Phoca vitulina* de otras partes del mundo, lo que confirma que la variabilidad de las concentraciones de elementos químicos estará influenciada por la localidad.

- Las concentraciones de ciertos elementos son indicativas de procesos biogeoquímicos locales en la escala de tiempo del tejido analizado. El Cd presentó las mayores concentraciones en ISR e ISJ debido a los eventos de surgencias de esa zona.
- Las concentraciones de algunos elementos químicos pueden funcionar como indicadores del tipo de dieta de la foca de puerto o de las áreas preferentes de alimentación. En este sentido, mayores concentraciones de Ag indicaron consumo de cefalópodos en ISR y altas concentraciones de Cd indicaron un consumo preferente de presas bentónicas en ISJ e ISR.
- Las concentraciones de algunos elementos medidos en foca pueden usarse como indicadores de sitios expuestos a contaminación. En ITS se encontraron las mayores concentraciones de Se, As, V, y Cu, probablemente debido a su cercanía con fuentes antropogénicas como la acuicultura, descarga de aguas residuales, desechos industriales y fertilizantes, así como en EPB sitio con altas concentraciones de Ba y Cu por su cercanía a asentamientos humanos y al uso de fertilizantes en el valle agrícola de Maneadero.
- Las concentraciones de As, Cd, Cu, Pb y V fueron altas al compararlas con los valores de otras especies y con los límites máximos permisibles. Sin embargo, no se puede concluir que sean tóxicas o que estén causando un daño a la salud de las focas de puerto del Pacífico en México debido que no se tienen estudios patológicos, ni se midieron otros parámetros de salud que nos ayudaran con el diagnóstico, por lo que se recomienda su monitoreo, sobre todo en hábitats críticos como EPB, debido a su cercanía con una zona urbanizada y a que su colonia es pequeña.
- Las causas naturales y antropogénicas de la variabilidad de las concentraciones de elementos químicos en la foca de puerto en colonias mexicanas no fueron claramente distinguibles, por lo que se recomienda el análisis de las concentraciones de elementos químicos en agua o en otras especies para clarificar sus fuentes. Las concentraciones altas en Mg, Zn, Fe, Ca, en EPB podrían considerarse buenos indicadores de salud/nutrición de los individuos, pero también podrían deberse al uso de químicos resultado de la acuicultura en la zona.
- El pelo de las crías de las focas de puerto en México, con base en el análisis de las concentraciones de elementos químicos resultó ser un buen bioindicador ecotoxicológico, de procesos biogeoquímicos y de áreas preferentes de alimentación. Además, representa un material de fácil

acceso, transporte, guardado y preservación, y con buena detectabilidad analítica para evaluar la exposición ambiental a los elementos.

- Las correlaciones positivas entre los elementos Ca-Fe, Ca-Mg indican un comportamiento sinérgico que puede estar relacionado con el estado nutricional de la foca de puerto y entre Co-Sb, Sb-V, y V de aportes antropogénicos (p.e. el Zn podría verse comprometido ante la presencia de V y causar efectos a nivel nutricional).

Capítulo 4. Relación de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ con elementos químicos en la foca de puerto del Pacífico en colonias de México

4.1. Introducción

La foca de puerto del Pacífico, al distribuirse a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California (Lubinsky-Jinich et al., 2017), traslapa su hábitat con el de algunas actividades humanas, quienes como resultado vierten al mar sustancias químicas que pueden alterar las concentraciones de algunos elementos químicos.

Los elementos químicos en ambientes costeros no sólo son resultado de actividades antropogénicas como la quema de combustibles fósiles, por productos de la minería, agricultura y desechos industriales, sino también provienen de fuentes naturales como la erosión, meteorización de las rocas, procesos volcánicos, y llegan al mar principalmente a través de ríos, esteros y deposición atmosférica (Pan y Wang, 2012).

Los elementos químicos son necesarios en pequeñas cantidades para el crecimiento, desarrollo y fisiología de un organismo, pero también pueden convertirse en tóxicos si sobrepasan los límites naturales (Hirata et al., 2010). Los organismos marinos son el reflejo de lo que pasa en el ecosistema donde viven, convirtiéndolas en organismos bioindicadores (Marcovecchio et al., 1994; Mössner y Ballschmiter, 1997; Das et al., 2002). Además, los mamíferos marinos, como la foca de puerto del Pacífico, debido a su larga vida, ser consumidores tróficos de nivel superior y vivir en un hábitat costero, los hace particularmente propensos a la acumulación de elementos químicos (Pauly et al., 1998; Ross, 2000; McHuron et al., 2014).

Debido a que las relaciones tróficas en los ecosistemas marino-costeros son complejas, el uso de trazadores químicos para identificar las posibles fuentes de elementos químicos (Das et al., 2003; Das et al., 2004a; Dehn et al., 2006a) así como sus hábitos alimentarios (al ser la dieta su principal vía de entrada), analizada a través de las composiciones isotópicas de carbono y nitrógeno, pueden complementar o precisar lo que está ocurriendo en el medio a diferentes escalas de tiempo dependiendo del tejido que se utilice. Por lo tanto, se espera que los animales que se alimentan en hábitats biogeoquímicamente distintos, o de especies presas diferentes, reflejen esas diferencias en el análisis de sus tejidos.

Por su parte, el análisis de las composiciones isotópicas estables de nitrógeno y carbono son herramientas poderosas para establecer interacciones tróficas básicas. Sin embargo, para su correcta

interpretación existen dificultades y limitaciones. Por una parte, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ se ven influenciados por la edad, la condición corporal, el catabolismo de proteínas asociado con periodos de ayuno, productividad primaria, latitud, etc. (DeNiro y Epstein, 1981 ; Hobson et al., 1993; Newsome et al., 2010). Los valores isotópicos de nitrógeno de las presas se reflejan en los tejidos del consumidor, con un ligero enriquecimiento en cada nivel trófico, y se ha documentado aumenta a razones predecibles, en cada eslabón de 3 a 5 ‰ (Kelly, 2000). Además, las tasas de fraccionamiento isotópico específicos tanto de tejidos como en otras especies son otro factor a considerar para determinar el nivel trófico por medio del $\delta^{15}\text{N}$. En cuanto al $\delta^{13}\text{C}$, es un indicativo de las áreas preferentes de alimentación de los consumidores (Cherel y Hobson, 2007; Newsome et al., 2010). Sin embargo, también deben tenerse en cuenta factores como el fraccionamiento isotópico, debido a las rutas fotosintéticas específicas por taxón, las variaciones en la composición isotópica del carbono inorgánico causadas por procesos biogeoquímicos y a las diferencias entre los productores pelágicos y bentónicos de su dieta, así como la latitud (France, 1995; Hobson et al., 1997).

Debido a lo anterior, el objetivo de este capítulo es combinar el análisis de estas dos técnicas (isótopos estables y elementos químicos) para dilucidar si existen diferencias regionales entre las colonias de foca de puerto, así como determinar cuáles procesos locales biogeoquímicos están presentes en cada colonias y conocer las posibles fuentes u origen de los elementos químicos, además de precisar las zonas de alimentación preferente de la foca de puerto en colonias mexicanas.

4.2 Hipótesis

La combinación del análisis de elementos químicos y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ ayuda a precisar, áreas preferentes de alimentación, evidenciar procesos biogeoquímicos y posibles fuentes de contaminación.

- Altas concentraciones de Cd se correlacionan con altos valores de $\delta^{13}\text{C}$, ya que las colonias donde las focas se alimentan preferencialmente de presas de hábitat bentónico y hay correlaciones positivas entre Cd y $\delta^{13}\text{C}$.

- Concentraciones altas de Fe, Cd, Mg se correlacionan con altos valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, por lo que en sitios donde hay eventos de surgencia se esperan correlaciones positivas de los elementos mencionados.

4.3 Objetivos

1. Correlacionar los valores del $\delta^{15}\text{N}$ y las concentraciones de elementos químicos, para conocer los elementos que se biomagnifican o aumentan con el nivel trófico.
2. Correlacionar los valores de $\delta^{13}\text{C}$ con las concentraciones de elementos químicos, para precisar el área preferente de alimentación de la foca de puerto del Pacífico.

4.4 Metodología

4.4.1 Análisis estadísticos

Para conocer si existe asociación entre las concentraciones de elementos químicos y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ se realizó una matriz de correlación, en la que se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman (Coeficiente de Spearman ρ) para medir el grado de relación lineal que existe entre el elemento químico analizado y el valor de $\delta^{13}\text{C}$ ó $\delta^{15}\text{N}$. El grado de relación se establece con base en el valor de ρ , si este es igual a cero no existe correlación lineal entre esos dos elementos, pero si el valor de ρ es igual o cercano a uno indica que existe una correlación lineal entre esos dos elementos. La significación estadística se estableció en un valor $p < 0.05$.

4.5 Resultados

Para conocer la asociación o interdependencia entre cada elemento químico con los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ se realizó una matriz de correlación para cada sitios de estudio (Tabla 14). Se graficaron sólo

aquellas correlaciones con coeficientes de correlación $\rho > 0.3$ y con significación estadística ($p < 0.05$) (Figuras 11-15).

4.5.1. Relación entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ y elementos químicos

En Isla Todos Santos (ITS), se presentaron correlaciones positivas entre el $\delta^{15}\text{N}$ y las concentraciones de los elementos Ba, Ca, y Se (Figuras 10 a, b y c), así como entre el $\delta^{13}\text{C}$ y el Ca, Sb y Cd (Figura 11 a, b, c, respectivamente).

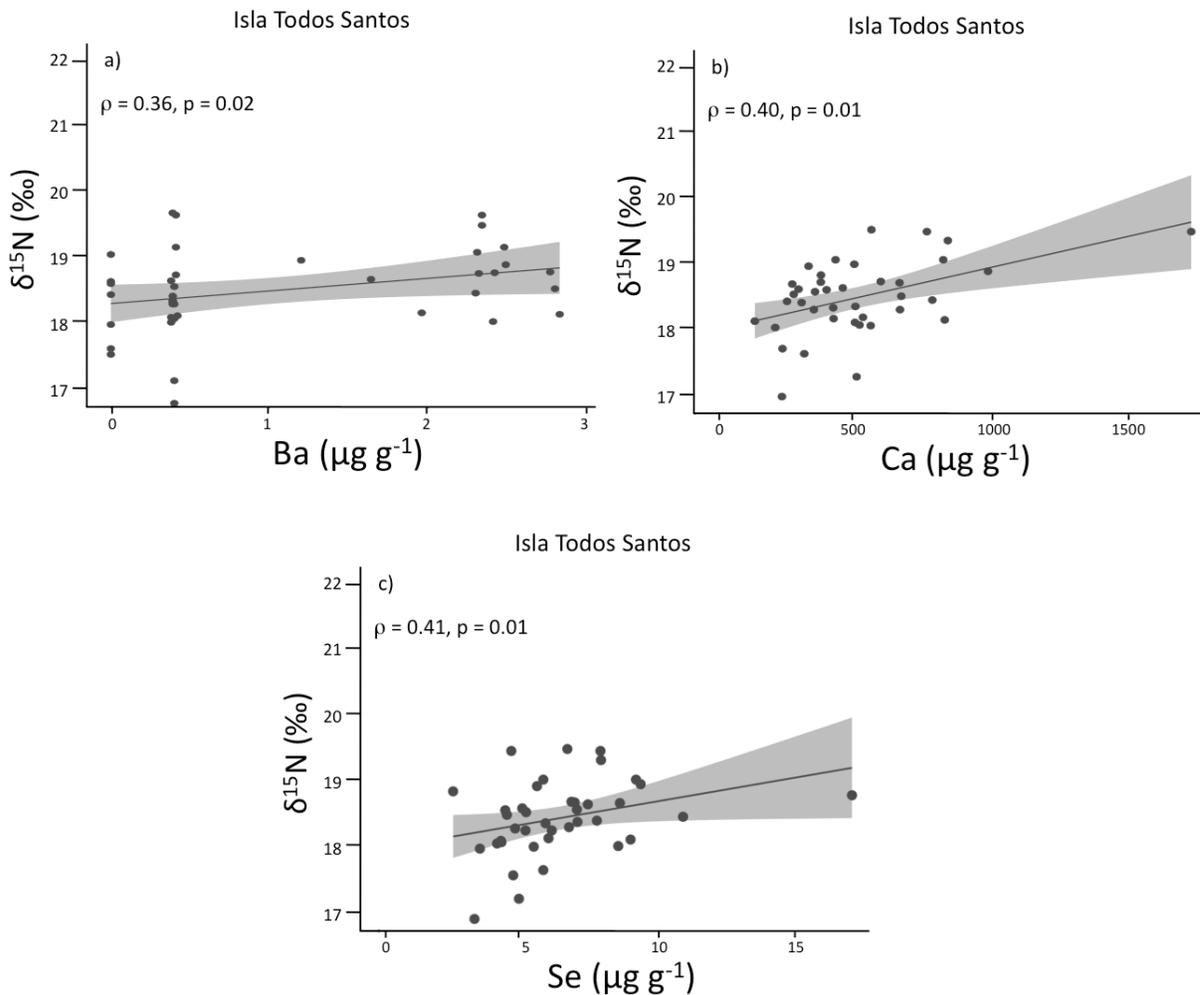


Figura 10. Correlaciones positivas entre a) $\delta^{15}\text{N}$ y Ba, b) $\delta^{15}\text{N}$ y Ca, c) $\delta^{15}\text{N}$ y Se, en Isla Todos Santos.

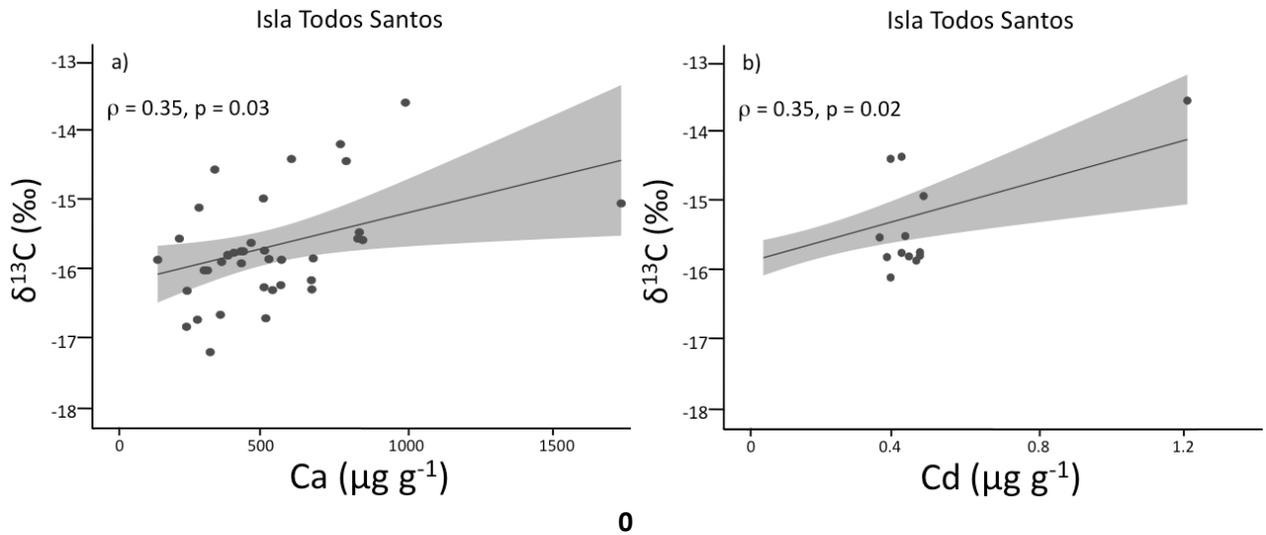


Figura 11. Correlación positiva entre a) $\delta^{13}\text{C}$ y Ca y b) $\delta^{13}\text{C}$ y Cd en Isla Todos Santos.

En el Estero de Punta Banda (EPB) sólo estuvieron correlacionados positivamente ($\rho=0.59$) el $\delta^{15}\text{N}$ y Ca, $\rho=0.59$ (Figura 12).

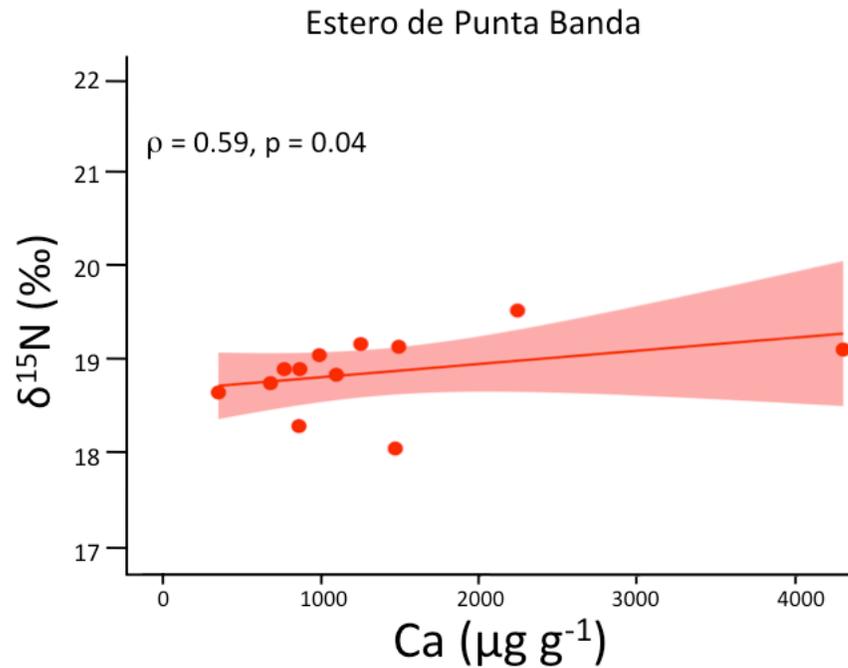


Figura 12. Correlación positiva entre a) $\delta^{15}\text{N}$ y Ca, en Estero Punta Banda.

Tabla14. Matriz de correlación entre las concentraciones de elementos químicos y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en cada sitio de estudio (ITS, EPB, ISJ, IN e ISR), resaltado en rojo los valores significativos ($p < 0.05$).

Estadístico	Ag	As	Ba	Ca	Cd	Co	Cu	Fe	Mg	Pb	Sb	Se	V	Zn	
ITS															
$\delta^{13}\text{C}$	ρ Spearman	NaN	0.19	0.227	0.348	0.351	0.276	0.144	-0.013	0.014	0.2	0.32	0.095	0.005	-0.108
	valor p	NaN	0.247	0.165	0.03	0.029	0.089	0.382	0.939	0.933	0.223	0.047	0.566	0.978	0.514
$\delta^{15}\text{N}$	ρ Spearman	NaN	0.283	0.366	0.402	0.32	0.353	0.23	0.042	0.235	0.241	0.276	0.406	0.224	-0.025
	valor p	NaN	0.08	0.022	0.011	0.047	0.027	0.159	0.801	0.15	0.14	0.089	0.01	0.171	0.878
EPB															
$\delta^{13}\text{C}$	ρ Spearman	NaN	-0.294	0.011	0	-0.393	-0.156	-0.406	-0.231	0.399	-0.441	0.165	-0.137	-0.403	-0.07
	valor p	NaN	0.354	0.974	1	0.206	0.628	0.193	0.471	0.201	0.152	0.608	0.672	0.194	0.834
$\delta^{15}\text{N}$	ρ Spearman	NaN	-0.144	0.17	0.588	0.219	0.239	0.564	0.343	0.256	0.322	-0.213	0.193	0.086	0.291
	valor p	NaN	0.656	0.598	0.044	0.495	0.454	0.056	0.275	0.422	0.308	0.507	0.548	0.79	0.359
ISJ															
$\delta^{13}\text{C}$	ρ Spearman	NaN	0.261	0.241	-0.367	0.025	0.158	-0.324	-0.296	-0.241	0.234	-0.002	0.585	0.483	0.227
	valor p	NaN	0.172	0.208	0.05	0.897	0.413	0.087	0.119	0.208	0.221	0.991	<.001	0.008	0.237
$\delta^{15}\text{N}$	ρ Spearman	NaN	-0.131	0.003	-0.12	0.104	-0.045	-0.199	0.148	0.039	0.124	-0.039	0.158	0.208	0.171
	valor p	NaN	0.497	0.987	0.535	0.59	0.816	0.3	0.443	0.84	0.521	0.841	0.414	0.28	0.375
IN															
$\delta^{13}\text{C}$	ρ Spearman	NaN	-0.067	-0.043	-0.017	-0.048	0	0.046	-0.035	-0.167	0.208	0.191	-0.109	0.223	-0.456
	valor p	NaN	0.739	0.832	0.933	0.81	1	0.821	0.861	0.404	0.299	0.34	0.588	0.264	0.018
$\delta^{15}\text{N}$	ρ Spearman	NaN	0.138	0.059	-0.05	0.179	-0.101	-0.043	-0.191	-0.11	0.352	0.041	0.461	-0.112	-0.089
	valor p	NaN	0.493	0.771	0.805	0.372	0.617	0.832	0.341	0.585	0.072	0.84	0.016	0.578	0.659
ISR															
$\delta^{13}\text{C}$	ρ Spearman	-0.178	0.141	-0.151	0.25	-0.018	-0.203	0.286	-0.096	0.228	-0.252	-0.125	0.158	-0.254	0.089
	valor p	0.338	0.448	0.416	0.174	0.923	0.274	0.119	0.609	0.216	0.172	0.504	0.396	0.167	0.635
$\delta^{15}\text{N}$	ρ Spearman	0.156	-0.072	0.165	-0.339	-0.138	0.132	-0.044	-0.083	-0.056	0.042	0.055	-0.199	0.041	-0.047
	valor p	0.401	0.699	0.376	0.062	0.46	0.479	0.815	0.657	0.765	0.823	0.771	0.282	0.825	0.801

En Isla San Jerónimo (ISJ) se correlacionaron negativamente $\delta^{13}\text{C}$ y Ca ($\rho=-0.37$), y negativamente se correlacionaron el $\delta^{13}\text{C}$ con el Se ($\rho=-0.59$), así como con el V ($\rho=-0.48$) (Figura 13).

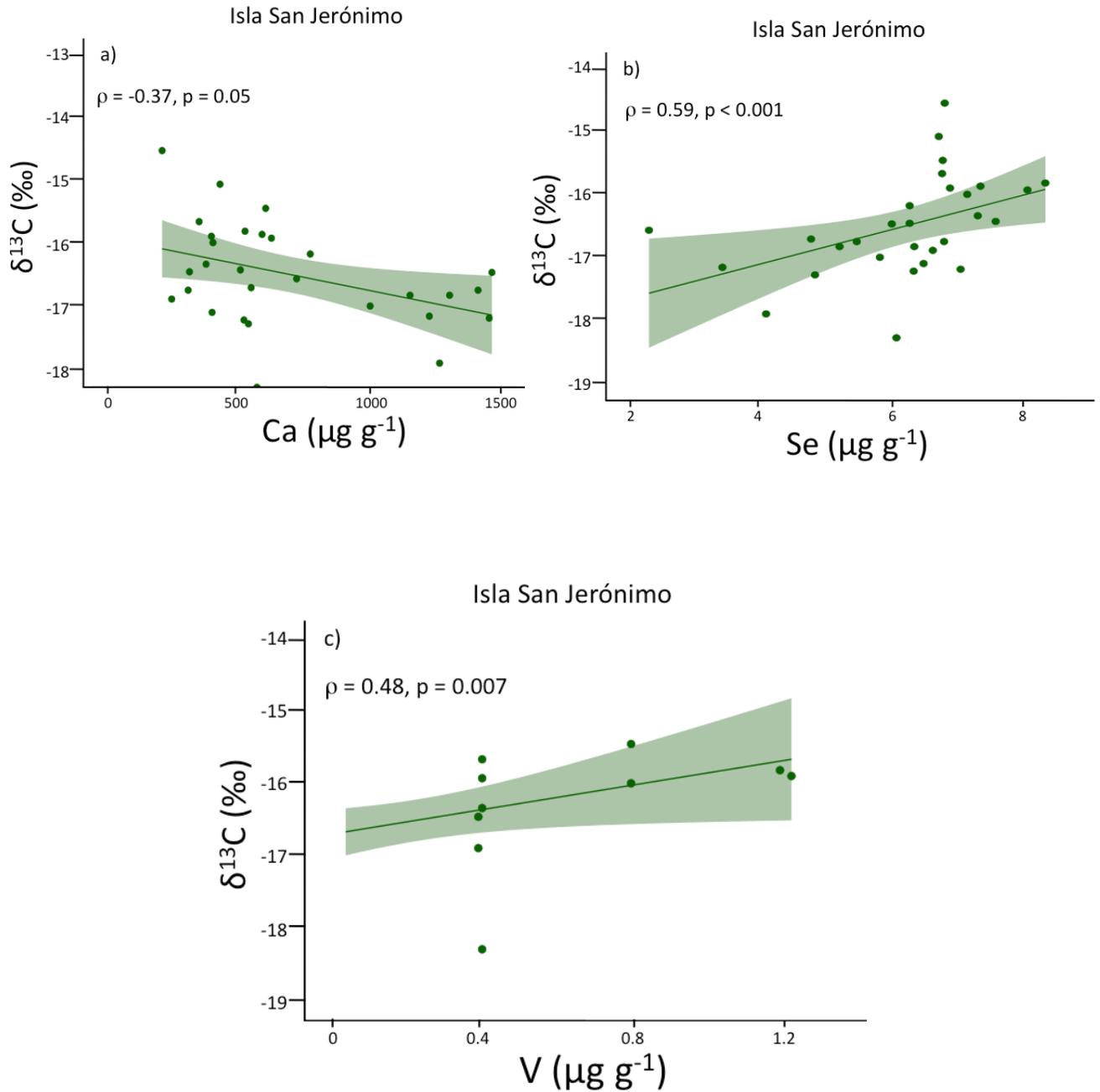


Figura 13. Correlación entre a) $\delta^{13}\text{C}$ y Ca, b) $\delta^{13}\text{C}$ y Se y c) $\delta^{13}\text{C}$ y V en Isla San Jerónimo.

En Isla Natividad se presentaron una correlación positiva entre $\delta^{15}\text{N}$ y el Se ($\rho=0.46$; Figura 14a) y una negativa entre el $\delta^{13}\text{C}$ y el Zn ($\rho=-0.46$) (Figura 14b).

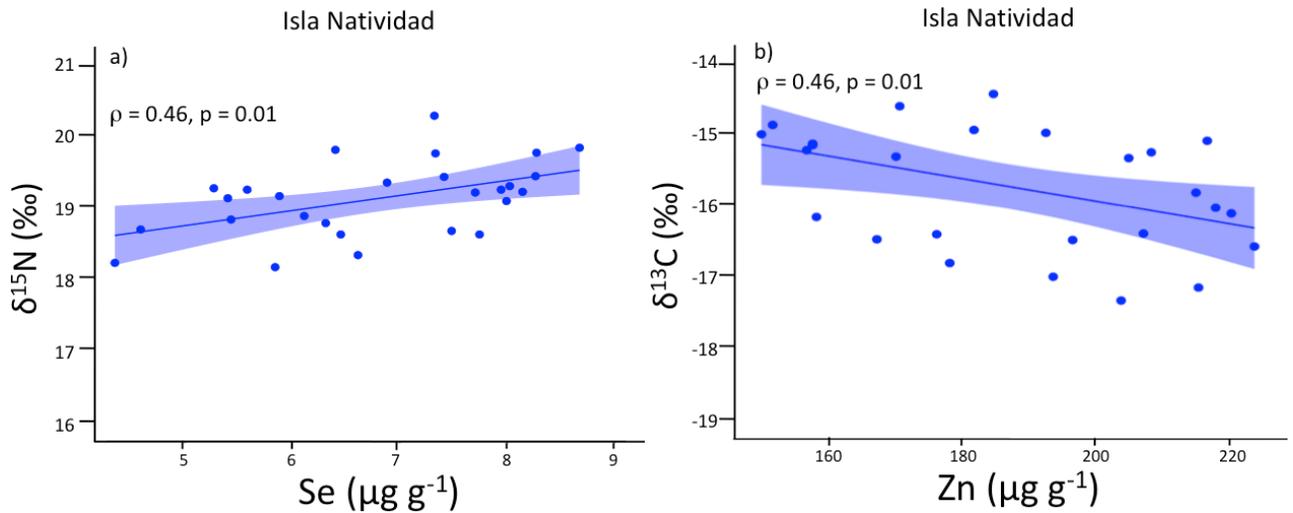


Figura 14. Correlación entre a) $\delta^{13}\text{C}$ y Se y b) $\delta^{13}\text{C}$ y Zn en Isla Natividad.

4.6. Discusión

Recientemente se ha incrementado el uso de la combinación de técnicas para entender de una manera más precisa la ecología trófica de mamíferos marinos, como es el caso del análisis del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ y de la concentración de elementos químicos (Atwell et al., 1998; Das et al., 2000; McHuron, 2012; McHuron et al., 2014).

Algunos elementos como el cadmio y selenio, que tienden a biomagnificarse, se han correlacionado de manera positiva con el $\delta^{15}\text{N}$, reflejo de su alta posición en la red alimentaria (Das et al., 2004a; Dehn et al., 2007). Esto es particularmente observable cuando se tienen valores a lo largo de la historia de vida de un individuo. Sin embargo, en este trabajo se obtuvieron muestras de una sola categoría de edad (crías de 2-4 semanas), que además de presentar ligeras diferencias tanto en el $\delta^{15}\text{N}$ entre individuos de una misma colonia y entre colonias, se observó una correlación positiva entre Se y $\delta^{15}\text{N}$ en ITS y en IN. Esto puede ser debido a que algunos metales son adquiridos de la madre a la cría durante la gestación, como se ha reportado en otras especies de pinnípedos (p.e. foca harpa) (Wagemann et al., 1988). Contrariamente a lo esperado, no hubo una correlación positiva en ISR entre $\delta^{15}\text{N}$ y Se.

Las concentraciones de Se en los organismos se ha documentado se incrementa con la edad y el tamaño corporal de los organismos (Agusa et al., 2011b), en el presente sólo se analizó una categorías de edad (crías), que aunque son un proxy de las madres, no tenemos datos para comparar en otras etapas de la vida de las focas de puerto en México, por lo que el factor edad no puede ser tomado en cuenta en nuestro análisis. En consecuencia, una de las posibles causas de la correlación positiva de Se- $\delta^{15}\text{N}$ se debe a que el rango de edad de las crías durante el muestreo fue de 2 a 4 semanas, lo que pudo causar un ligero gradiente en ambos elementos (Figura 11c).

En cuanto a la correlación de Ba y $\delta^{15}\text{N}$, en ITS, se ha reportado que el Ba también se presenta en altas concentraciones en eventos de surgencia o en regiones altamente productivas, como ocurre en las aguas aledañas a ITS (Masski et al., 2015).

El uso de fertilizantes puede aumentar las concentraciones de Ca, C, N, y Zn (Roberts, 2014). Posiblemente la cercanía de EPB e ISJ a sitios de descargas agrícolas favorezca el incremento de las concentraciones de los elementos citados anteriormente.

4.6.1 Relación con la dieta

El análisis del $\delta^{13}\text{C}$, es una herramienta potencialmente útil, como se discutió en el capítulo dos del presente trabajo, para denotar el origen de las fuentes de carbono, donde el patrón que se presenta es que en zonas costeras la red trófica está más enriquecida en ^{13}C comparada con las zonas oceánicas. Además, podría ser indicativo de la zona preferente de alimentación, al presentar valores más altos los individuos que se alimentan en áreas bentónicas en contraparte de aquellos que se alimentan en zonas pelágicas (Hobson, 1999).

Se han reportado altas concentraciones de Cd relacionadas con la dieta en varias especies de mamíferos marinos, principalmente como resultado de la ingesta de cefalópodos (Bustamante et al., 1998). Altas concentraciones de Cd se esperan en los sitios con valores altos de $\delta^{13}\text{C}$, y en el caso de la foca de puerto del Pacífico, el sitio con la concentración más alta en este elemento fue ISJ, y al compararla con los datos de sus especies presa se observa que en este sitio *Octopus sp.* tiene un alto IIMPi (18.4) y también un alto porcentaje de frecuencia (33%) (Durazo-Rodríguez, 2015). Sin embargo, no existió correlación

entre $\delta^{13}\text{C}$ y el Cd en ISJ, pero sí en ITS, donde se observó que las presas principales de la foca de puerto son de hábitat bentónico (*Sebastes spp*, *S. Lucioceps* y *Octopus sp.*) (Figura 12b).

No existen estudios que relacionen el Ca con valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, ni tampoco está bien entendido si los valores de los isótopos estables de carbono y nitrógeno pueden ser indicativos de un estado nutricional (Clementz et al., 2003; Kempster et al., 2007), pero al ser el calcio un elemento esencial es posible que pueda ser utilizado como indicativo de un estado nutricional saludable, como lo apunta Fernández-Martín (2018) para ITS y EPB.

4.8 Conclusiones

- Las correlaciones encontradas en el presente trabajo entre las concentraciones de elementos químicos y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y de $\delta^{13}\text{C}$ no fueron tan claras para precisar o robustecer la presencia de procesos biogeoquímicos, y hábitos alimentarios, debido probablemente a la falta de medición de otros factores como la edad, peso y longitud de los individuos.
- Se encontraron correlaciones bajas por sitio entre las concentraciones de elementos químicos y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y de $\delta^{13}\text{C}$, lo cual puede deberse a las causas multifactoriales que influyen en la variación de estos elementos.

Capítulo 5. Conclusiones generales

- Las cinco colonias de foca de puerto del Pacífico en México que se encuentran a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California de norte a sur: Isla Todos Santos, Estero de Punta Banda, Isla San Jerónimo, Isla Natividad e Isla San Roque presentaron distintas concentraciones de Ag, As, B, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Pb, Sb, Se, V y Zn y valores diferentes de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, reflejo de una dieta, procesos biogeoquímicos y aportes antropogénicos característicos de cada sitio.
- En particular, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ revelaron diferencias en la línea base de la red trófica de la región del Pacífico norte en comparación con otros sitios (p.e. Islas Galápagos y Golfo de California). En esta región se presentó un patrón latitudinal de norte a sur que evidenció el enriquecimiento en ^{15}N en la base de la cadena trófica, así como fidelidad al sitio por parte de los individuos.
- Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ indicaron que las hembras adultas de foca, prefieren alimentarse en áreas bentónico-demersales, con ligeras variaciones entre colonias debido al consumo diferente de especies presa.
- Las crías resultaron ser un buen indicador de hábitos alimentarios de las madres, con base en el análisis de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$.
- La matriz orgánica utilizada en esta investigación, pelo de crías, proporcionó una ventana temporal de 3-4 meses, referente al tiempo en que se biosintetizó a partir del séptimo mes de gestación y reflejó la información de los hábitos alimentarios de las madres y de procesos biogeoquímicos locales ocurridos en invierno-primavera (febrero-abril) de 2015.
- Los elementos As, Co, Cu, Se y V son los mejores trazadores para evidenciar sitios contaminados. EPB fue el sitio con mayor concentración de Cu debido a su cercanía con asentamientos humanos y al uso de fertilizantes en campos agrícolas de Maneadero. ITS presentó las concentraciones más altas en As, Cu, y V debido muy probablemente a la cercanía de plantas de tratamiento presentes en la región.
- El Cd y $\delta^{13}\text{C}$ resultaron ser indicativos de zonas bentónicas preferentes de alimentación de la foca de puerto.

- Altas concentraciones de Cd y $\delta^{13}\text{C}$ evidencian sitios con eventos de surgencia (p.e. ISR).
- La combinación de los análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno y el de concentraciones de elementos químicos en el pelo de las crías de foca de puerto del Pacífico constituye una herramienta bioindicadora de su hábitat marino. Ayudó a precisar los hábitos alimentarios de las focas de puerto en cada colonia en México además de evidenciar procesos biogeoquímicos y posibles sitios de contaminación.

Capítulo 6. Recomendaciones

- En el presente trabajo recomendamos la colecta de pelo en colonias de foca de puerto del Pacífico al ser un método menos invasivo en comparación con otras matrices orgánicas i.e. sangre, músculo, grasa.
- Un continuo monitoreo y a largo plazo de las concentraciones de elementos químicos, sobre todo en EPB, el cual representa un hábitat crítico para la foca de puerto del Pacífico en México, podría ayudar al establecimiento de niveles de contaminación o toxicidad para las poblaciones de vida libre.
- La medición de las concentraciones de elementos químicos en conjunto con otras variables como la edad, sexo o peso podrían evidenciar más claramente los procesos de transferencia, bioacumulación y biomagnificación en la foca de puerto del Pacífico.
- Se recomiendan además estudios a nivel fisiológico y metabólico de las concentraciones de elementos químicos para conocer de manera más precisa las rutas y la transferencia de estos elementos en el organismo.
- Aunque este trabajo se limitó en medir las concentraciones de algunos elementos químicos, los cuales son los primeros reportados en la foca de puerto del Pacífico para colonias mexicanas, su relación con algunas enfermedades o en general el estado de salud es muy limitado, por lo se recomienda su continuo monitoreo a largo plazo así como la medición de otros parámetros y análisis patológicos.
- La identificación de las fuentes de origen de los elementos químicos podría ayudar al establecimiento de un plan de manejo para esta subespecie, el cual debería incluir la restricción de aquellas actividades antropogénicas que estén afectando directa o indirectamente la salud de los individuos.
- Determinar el nivel en el que algunos elementos químicos se vuelven tóxicos y su relación con enfermedades, son necesarios para el monitoreo de la salud de los individuos y la reducción de riesgo del declive de sus colonias.

Literatura citada

- Adriano, D. C. 2001. Trace elements in the terrestrial environment. Springer-Verlag, New York.
- Agusa, T., Nomura, K., Kunito, T., Anan, Y., Iwata, H. y Tanabe, S. 2011a. Accumulation of trace elements in harp seals (*Phoca groenlandica*) from pangnirtung in the Baffin island, Canada. *Marine Pollution Bulletin*, 63(5–12), 489-499.
- Agusa, T., Yasugi, S. Y., Iida, A., Ikemoto, T., Anan, Y., Kuiken, T., Osterhaus, A. D., Tanabe, S. y Iwata, H. 2011b. Accumulation features of trace elements in mass-stranded harbor seals (*Phoca vitulina*) in the North Sea coast in 2002: the body distribution and association with growth and nutrition status. *Marine Pollution Bulletin*, 62(5), 963-975.
- Alamán-de-Régules, R. 2014. Hábitos alimentarios de la foca de puerto, *Phoca vitulina richardsi*, en la Bahía Todos Santos, Baja California, México. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California. 79 pp.
- Allen, L. G., Pondella, D. J. y Horn, M. H. 2006. The ecology of marine fishes: California and adjacent waters. University of California Press, Berkeley.
- Allen, S. G., Mortenson, J. y Webb, S. 2011. Field Guide to Marine Mammals of the Pacific Coast: Baja California, Oregon, Washington, British Columbia. University of California Press, California.
- Altabet, M. A., Pilskaln, C., Thunell, R., Pride, C., Sigman, D., Chavez, F. y Francois, R. 1999. The nitrogen isotope biogeochemistry of sinking particles from the margin of the Eastern North Pacific. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 46(4), 655-679.
- Amador-Capitanachi, M., Moreno-Sánchez, X., Juárez-Ruiz, A., Ferretto, G. y Elorriaga-Verplancken, F. 2017. Trophic Variation Between the two existing Guadalupe fur seal colonies on Guadalupe Island and the San Benito Archipelago, Mexico. *Aquatic Mammals*, 43(1), 14-25.
- Andrade, S., Carlini, A., Vodopivec, C. y Poljak, S. 2007. Heavy metals in molted fur of the southern elephant seal *Mirounga leonina*. *Marine Pollution Bulletin*, 54(5), 602-605.
- André, J., Ribeyre, F. y Boudou, A. 1990. Mercury contamination levels and distribution in tissues and organs of delphinids (*Stenella attenuata*) from the eastern tropical Pacific, in relation to biological and ecological factors. *Marine Environmental Research*, 30(1), 43-72.
- Apostoli, P. 2002. Elements in environmental and occupational medicine. *Journal of Chromatography B*, 778(1–2), 63-97.
- Aranda, P., Planells, E. y Llopis, J. 2000. Scientific Communication: Art o Technique? *Ars Pharmaceutica*, 41(1), 91-100.
- Arias del Razo, A. 2016. Factores que determinan la preferencia de hábitat de los pinnípedos en las islas del Pacífico de Baja California. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 95 pp.

- ATSDR. 1990. Toxicological profile for Silver. Atlanta, GA, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 1995. Toxicological profile for Antimony. Atlanta, GA, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 2000. Toxicological profile for Arsenic. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 2003. Toxicological profile for Selenium Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 2004a. Toxicological profile for Copper. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 2005. Toxicology profile for Cinc. Atlanta, GA, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 2007. Toxicological Profile for Barium and Compounds Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 2012. Toxicological profile for Cadmium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 2019. Toxicological profile for Lead. Atlanta, Georgia. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. 2004b. Toxicological profile for Cobalt. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Atwell, L., Hobson, K. A. y Welch, H. E. 1998. Biomagnification and bioaccumulation of mercury in an arctic marine food web: insights from stable nitrogen isotope analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(5), 1114-1121.
- Aubail, A., Teilmann, J., Dietz, R., Rigét, F., Harkonen, T., Karlsson, O., Rosing-Asvid, A. y Caurant, F. 2011. Investigation of mercury concentrations in fur of phocid seals using stable isotopes as tracers of trophic levels and geographical regions. *Polar Biology*, 34(9), 1411-1420.
- Aurioles-Gamboa, D., Koch, P. L. y Le Boeuf, B. J. 2006. Differences in foraging location of Mexican and California elephant seals: evidence from stable isotopes in pups. *Marine Mammal Science*, 22(2), 326-338.
- Aurioles-Gamboa, D., Newsome, S. D., Salazar-Pico, S. y Koch, P. L. 2009. Stable isotope differences between sea lions (*Zalophus*) from the Gulf of California and Galapagos Islands. *Journal of Mammalogy*, 90(6), 1410-1420.
- Austrebertha, R. M. y Morales-Vela, B. 1999. Metales en hueso y sangre de manatíes (*Trichechus manatus manatus*) de la Bahía de Chetumal, Quintana Roo, Mexico. Tesis de maestría. El Colegio de la Frontera Sur. 142 pp.

- Baer, K. y Thomas, P. 1991. Isolation of novel metal-binding proteins distinct from metallothionein from spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*) and Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) ovaries. *Marine Biology*, 108(1), 31-37.
- Bass, D. A., Hickok, D., Quig, D. y Urek, K. 2001. Trace element analysis in hair: factors determining accuracy, precision, and reliability. *Alternative Medicine Review*, 6(5), 472-481.
- Baumgartner, T., Durazo, B., Lavaniegos, G., Gaxiola, J. y Gómez J. 2008. Ten years of change from IMECOCAL observations in the southern region of the California Current Ecosystem. *GLOBEC International Newsletter*, 14(2), 43-54.
- Bearhop, S., Adams, C. E., Waldron, S., Fuller, R. A. y MacLeod, H. 2004. Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology*, 73(5), 1007-1012.
- Bearhop, S., Waldron, S., Votier, S. C. y Furness, R. W. 2002. Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers. *Physiological and Biochemical Zoology*, 75(5), 451-458.
- Becker, P. R., Mackey, E. A., Demiralp, R., Suydam, R., Early, G., Koster, B. J. y Wise, S. A. 1995. Relationship of silver with selenium and mercury in the liver of two species of toothed whales (odontocetes). *Marine Pollution Bulletin*, 30(4), 262-271.
- Bell, R. y Kramer, J. 1999. Structural chemistry and geochemistry of silver-sulfur compounds: Critical review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(1), 9-22.
- Beltrán-Félix, J. L., Hammann, M. G., Chagoya-Guzmán, A. y Alvarez-Borrego, S. 1986. Ichthyofauna of Estero de Punta Banda, Ensenada, Baja California, Mexico, before a major dredging operation. *Ciencias Marinas*, 12(1), 79-92.
- Bencko, V. 1995. Use of human hair as a biomarker in the assessment of exposure to pollutants in occupational and environmental settings. *Toxicology*, 101(1-2), 29-39.
- Bjerregaard, P. y Hansen, J. C. 2000. Organochlorines and heavy metals in pregnant women from the Disko Bay area in Greenland. *Science of The Total Environment*, 245(1-3), 195-202.
- Bjørge, A., Ekkby, T. y Bryant, E. 2002. Summer home range and habitat selection of harbor seal (*Phoca vitulina*) pups. *Marine Mammal Science*, 18(2), 438-454.
- Bjørge, A., Thompson, D., Hammond, P., Fedak, M., Bryant, E., Aarefjord, H., Roen, R. y Olsen, M. 1995. Habitat use and diving behaviour of harbour seals in a coastal archipelago in Norway. En: *Developments in Marine Biology*. Blix, A. S., Walløe, L. y Ulltang, Ø. (Ed.). Elsevier Science, (pp. 211-223).
- Bolnick, D. I., Yang, L. H., Fordyce, J. A., Davis, J. M. y Svanbäck, R. 2002. Measuring individual-level resource specialization. *Ecology*, 83(10), 2936-2941.
- Borrell, A., Aguilar, A., Tornero, V., Sequeira, M., Fernandez, G. y Alis, S. 2006. Organochlorine compounds and stable isotopes indicate bottlenose dolphin subpopulation structure around the Iberian Peninsula. *Environment International*, 32(4), 516-523.
- Bossart, G. D. 2006. Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Oceanography*, 19(2), 134-137.

- Bouquegneau, J. y Joiris, C. 1988. The fate of stable pollutants—heavy metals and organochlorines—in marine organisms. En: *Advances in Comparative and Environmental Physiology*. Arpigny, J. (Ed.). Springer, Berlin. (pp. 219-247).
- Bowen, W. y Harrison, G. 1996. Comparison of harbour seal diets in two inshore habitats of Atlantic Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 74(1), 125-135.
- Bowen, W. D. 2000. Reconstruction of pinniped diets: accounting for complete digestion of otoliths and cephalopod beaks. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57, 898–905.
- Boyd, C. E. y Massaut, L. 1999. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. *Aquacultural engineering*, 20(2), 113-132.
- Boyd, I. 1991. Environmental and physiological factors controlling the reproductive cycles of pinnipeds. *Canadian Journal of Zoology*, 69(5), 1135-1148.
- Boyd, I. 1998. Time and energy constraints in pinniped lactation. *The American Naturalist*, 152(5), 717-728.
- Boyd, I. L., Arnould, J. P., Barton, T. y Croxall, J. P. 1994. Foraging behavior of Antarctic fur seals during periods of contrasting prey abundance. *Journal of Animal Ecology*, 63, 703-713.
- Brassea-Pérez, E. 2016. Análisis metagenómico de la dieta de foca de puerto (*Phoca vitulina richardii*, Gray 1864) en México. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 127 pp.
- Brassea-Pérez, E., Schramm, Y., Heckel, G., Chong-Robles, J. y Lago-Lestón, A. 2019. Metabarcoding analysis of the Pacific harbor seal diet in Mexico. *Marine Biology*, 166(8), 106.
- Bratton, G., Flory, W., Spainhour, C. y Haubold, E. 1997. Assessment of heavy metals in liver, kidney, muscle, blubber, and visceral fat of Eskimo harvested bowhead whales (*Balaena mysticetus*) from Alaska's North Coast. Final Report to North Slope Borough, College of Veterinary Medicine, 223.
- Britt, J. O. y Howard, E. B. 1983. Tissue residues of selected environmental contaminants in marine mammals. En: *Pathobiology of marine mammal diseases*. Howard, B. (Ed.). CRC Press, Boca Raton, Florida. (pp. 79-94).
- Brookens, T. J., Harvey, J. T. y O'Hara, T. M. 2007. Trace element concentrations in the Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*) in central and northern California. *Science of The Total Environment*, 372(2–3), 676-692.
- Brookens, T. J., O'Hara, T. M., Taylor, R. J., Bratton, G. R. y Harvey, J. T. 2008. Total mercury body burden in Pacific harbor seal, *Phoca vitulina richardii*, pups from central California. *Marine Pollution Bulletin*, 56(1), 27-41.
- Bruland, K. W., Knauer, G. A. y Martin, J. H. 1978. Cadmium in northeast Pacific waters *Limnology and Oceanography*, 23(4), 618-625.
- Burton, J. H. y Price, T. 1990. The ratio of barium to strontium as a paleodietary indicator of consumption of marine resources. *Journal of Archaeological Science*, 17(5), 547-557.

- Burton, R. K. y Koch, P. L. 1999. Isotopic tracking of foraging and long-distance migration in northeastern Pacific pinnipeds. *Oecologia*, 119, 578-585.
- Bustamante, P., Caurant, F., Fowler, S. W. y Miramand, P. 1998. Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the northeast Atlantic Ocean. *Science of the Total Environment*, 220(1), 71-80.
- Cabana, G. y Rasmussen, J. B. 1996. Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93, 10844-10847.
- Camphuysen, K. y Vollaard, B. 2016. Oil Pollution in the Dutch Sector of the North Sea. En: *Oil Pollution in the North Sea*. Carpenter, A. (Ed.). Springer International Publishing, Suiza. (pp. 117-140).
- Cashman, K. D. y Flynn, A. 2007. Optimal nutrition: calcium, magnesium and phosphorus. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58(2), 477-487.
- Castellini, J. M., Rea, L. D., Lieske, C. L., Beckmen, K. B., Fadely, B. S., Maniscalco, J. M. y O'Hara, T. M. 2012. Mercury concentrations in hair from neonatal and juvenile Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*): Implications based on age and region in this Northern Pacific marine sentinel piscivore. *EcoHealth*, 9(3), 267-277.
- Cavole, L. M., Demko, A. M., Diner, R. E., Giddings, A., Koester, I., Pagniello, C., Paulsen, M., Ramirez-Valdez, A., Schwenck, S. y Yen, N. 2016. Biological impacts of the 2013–2015 warm-water anomaly in the Northeast Pacific: Winners, losers, and the future. *Oceanography*, 29(2), 273-285.
- Chantes-Guerra, A., Negrete-Abascal, E., Vaca-Pacheco, S., Sánchez-Alonso, M. P. y -Cruz, C. V. 2012. El hierro, elemento metálico importante en la vida y en los procesos infecciosos. *Elementos*, 85, 41-48.
- Chasteen, N. E. 1990. *Vanadium in biological systems: Physiology and Biochemistry*. Kluwer Academic, Dordrecht.
- Cherel, Y. y Hobson, K. 2007. Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: a tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 329, 281-287.
- Clementz, M., Holden, P. y Koch, P. 2003. Are calcium isotopes a reliable monitor of trophic level in marine settings? *International Journal of Osteoarchaeology*, 13(1-2), 29-36.
- Coltman, D. W., Bowen, W. D. y Wright, J. M. 1998 Male mating success in an aquatically mating pinniped, the harbour seal (*Phoca vitulina*), assessed by microsatellite DNA markers. *Molecular Ecology*, 7(5), 627-638.
- Committee on Taxonomy. 2019. List of marine mammal species and subspecies. Consultado el 15 de abril de 2019, de www.marinemammalscience.org.
- CONANP. 2012. Plan de Manejo Sitio Ramsar Estero de Punta Banda. Consultado el 15 de octubre del 2019, de http://ramsar.conanp.gob.mx/docs/sitios/lineamientos_instrumentos/ESTERO_PUNTA_BAND
- Cottrell, P. E., Jeffries, S., Beck, B. y Ross, P. S. 2002. Growth and development in free-ranging harbor seal (*Phoca vitulina*) pups from southern British Columbia, Canada. *Marine Mammal Science*, 18(3), 721-733.

- Cutter, G. A. y Bruland, K. W. 1984. The marine biogeochemistry of selenium: A re-evaluation. *Limnology and Oceanography*, 29(6), 1179-1192.
- Cuvin-Aralar, M. L. y Furness, R. W. 1991. Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21(3), 348-364.
- Da Silva, J. y Neilson, J. D. 1985. Limitations of using otoliths recovered in scats to estimate prey consumption in seals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42(8), 1439-1442.
- Daesslé, L. W., Mendoza-Espinosa, L. G., Camacho-Ibar, V. F., Rozier, W., Morton, O., Van Dorst, L., Lugo-Ibarra, K. C., Quintanilla-Montoya, A. L. y Rodríguez-Pinal, A. 2006. The hydrogeochemistry of a heavily used aquifer in the Mexican wine-producing Guadalupe Valley, Baja California. *Environmental Geology*, 51(1), 151-159.
- Daniel, J. C. 1981. Delayed implantation in the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) and other pinnipeds. *Journal of reproduction and fertility*, 29, 35-50.
- Das, K., Beans, C., Holsbeek, L., Mauger, G., Berrow, S. D., Rogan, E. y Bouquegneau, J. M. 2003. Marine mammals from northeast atlantic: relationship between their trophic status as determined by $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ measurements and their trace metal concentrations. *Marine Environmental Research*, 56(3), 349-365.
- Das, K., Debacker, V., Pillet, S. y Bouquegneau, J. 2002. Heavy metals in marine mammals. En: *Toxicology of marine mammals*. Bossart, G., Fournier, M., O'Shea, T. y Vos, J. G. (Ed.). CRC Press, London. (pp. 147-179).
- Das, K., Holsbeek, L., Browning, J., Siebert, U., Birkun Jr, A. y Bouquegneau, J. M. 2004a. Trace metal and stable isotope measurements ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) in the harbour porpoise *Phocoena phocoena relicta* from the Black Sea. *Environmental Pollution*, 131(2), 197-204.
- Das, K., Lepoint, G., Loizeau, V., Debacker, V., Dauby, P. y Bouquegneau, J. M. 2000. Tuna and dolphin associations in the northeast Atlantic: Evidence of different ecological niches from stable isotope and heavy metal measurements. *Marine Pollution Bulletin*, 40(2), 102-109.
- Das, K., Siebert, U., Fontaine, M., Jauniaux, T., Holsbeek, L. y Bouquegneau, J. M. 2004b. Ecological and pathological factors related to trace metal concentrations in harbour porpoises *Phocoena phocoena* from the North Sea and adjacent areas. *Marine Ecology Progress Series*, 281, 283-295.
- De Boeck, M., Kirsch-Volders, M. y Lison, D. 2003. Cobalt and antimony: genotoxicity and carcinogenicity. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533(1-2), 135-152.
- De Guise, S., Martineau, D., Béland, P. y Fournier, M. 1995. Possible mechanisms of action of environmental contaminants on St. Lawrence beluga whales (*Delphinapterus leucas*). *Environmental Health Perspectives*, 103(4), 73.
- De Haas, H., Boer, W. y Van Weering, T. 1997. Recent sedimentation and organic carbon burial in a shelf sea; the North Sea. *Geologica Ultraiectina*, 155, 63.
- De la Lanza-Espino, G. 2001. Características físico-químicas de los mares de México. Plaza y Valdez, México.
- Dean, J. 1987. Handbook of organic chemistry. McGraw-Hill, , New York.

- Dehairs, F., Chesselet, R. y Jedwab, J. 1980. Discrete suspended particles of barite and the barium cycle in the open ocean. *Earth and Planetary Science Letters*, 49(2), 528-550.
- Dehn, L.-A., Follmann, E. H., Thomas, D. L., Sheffield, G. G., Rosa, C., Duffy, L. K. y O'Hara, T. M. 2006a. Trophic relationships in an Arctic food web and implications for trace metal transfer. *Science of the Total Environment*, 362(1-3), 103-123.
- Dehn, L.-A., Sheffield, G. G., Follmann, E. H., Duffy, L. K., Thomas, D. L. y O'Hara, T. M. 2007. Feeding ecology of phocid seals and some walrus in the Alaskan and Canadian Arctic as determined by stomach contents and stable isotope analysis. *Polar Biology*, 30(2), 167-181.
- Dehn, L. A., Follmann, E. H., Rosa, C., Duffy, L. K., Thomas, D. L., Bratton, G. R., Taylor, R. J. y O'Hara, T. M. 2006b. Stable isotope and trace element status of subsistence-hunted bowhead and beluga whales in Alaska and gray whales in Chukotka. *Marine Pollution Bulletin*, 52(3), 301-319.
- DeNiro, M. J. y Epstein, S. 1978 Influence of the 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*, 45, 341-351.
- Denton, G., Marsh, H., Heinsohn, G. y Burdon-Jones, C. 1980. The unusual metal status of the dugong *Dugon dugon*. *Marine Biology*, 57(3), 201-219.
- Dickson, A. G. y Goyet, C. 1994. Handbook of method for the analysis of the various parameters of the carbon dioxide system in sea water. Consultado el 1 de abril de 2020, de <https://www.osti.gov/biblio/10107773>.
- Dierauf, L. y Gulland, F. 2001. CRC handbook of marine mammal medicine: health, disease, and rehabilitation. CRC press, Boca Raton.
- Dietz, R., Nørgaard, J. y Hansen, J. 1998. Have Arctic marine mammals adapted to high cadmium levels? *Marine Pollution Bulletin*, 36(6), 490-492.
- Dietz, R., Riget, F. y Born, E. W. 2000. Geographical differences of zinc, cadmium, mercury and selenium in polar bears (*Ursus maritimus*) from Greenland. *The Science of the Total Environment*, 245(1-3), 25-47.
- Dietz, R., Riget, F. y Johansen, P. 1996. Lead, cadmium, mercury and selenium in Greenland marine animals. *The Science of the Total Environment*, 186(1-2), 67-93.
- Dinno, A. 2017. Dunn. test. CRAN Repos, 1(4).
- Drescher, H. E., Harms, U. y Whanger, P. D. 1977. Organochlorines and heavy metals in the harbor seal *Phoca vitulina* from German North Sea coast. *Marine Biology*, 41, 99-106.
- Duce, R. A., Hoffman, G. L. y Zoller, W. H. 1975. Atmospheric trace metals at remote northern and southern hemisphere sites: pollution or natural? *Science*, 187(4171), 59-61.
- Durazo, R. y Baumgartner, T. 2002. Evolution of oceanographic conditions off Baja California: 1997-1999 *Progress in Oceanography*, 54, 7-31.

- Durazo, R., Gaxiola-Castro, G., Lavaniegos, B., Castro-Valdez, R., Gómez-Valdés, J. y Da S. Mascarenhas, A. 2005. Oceanographic conditions west of the Baja California coast, 2002–2003: A weak El Niño and subarctic water enhancement. *Ciencias Marinas*, 31(3), 537-552.
- Durazo-Rodríguez, P. 2015. Variabilidad espacial y temporal de los hábitos alimentarios de la foca de puerto (*Phoca vitulina richardii*) en México. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California. 108 pp.
- Eguchi, T. y Harvey, J. T. 2005. Diving behavior of the Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*) in Monterey Bay, California. *Marine mammal science*, 21(2), 283-295.
- Eisler, R. 1994. A review of arsenic hazards to plants and animals with emphasis on fishery and wildlife resources. *Advances in Environmental Science and Technology -New York-*, 27, 185-185.
- Elorriaga-Verplancken, F. y Auriolos-Gamboa, D. 2008. Trace metal concentrations in the hair of *Zalophus californianus* pups and their relation to feeding habits. *Biological Trace Element Research*, 126(1-3), 148-164.
- Elorriaga-Verplancken, F., Auriolos-Gamboa, D., Newsome, S. D. y Martínez-Díaz, S. 2013a. $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values in dental collagen as a proxy for age-and sex-related variation in foraging strategies of California sea lions. *Marine biology*, 160(3), 641-652.
- Elorriaga-Verplancken, F., Morales-Luna Hadrys, L., Moreno-Sánchez, X. y Mendoza-Salas, I. 2013b. Inferences on the diet of the eastern Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*) at the southern end of its distribution: stable isotopes and scats analyses. *Aquatic Mammals*, 39(4).
- Elorriaga-Verplancken, F., Morales-Luna, L., Heckel, G. y Schramm, Y. 2016. Foraging ecology of harbour seals (*Phoca vitulina*) and Northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*) from Baja California, Mexico: inferences from stable isotopes in pups. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 96(4), 903–908.
- Elsdon, T. S. y Gillanders, B. M. 2006. Temporal variability in strontium, calcium, barium, and manganese in estuaries: implications for reconstructing environmental histories of fish from chemicals in calcified structures. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 66(1-2), 147-156.
- EPA. 2019. Permissible limits for metals Consultado el 1 de febrero de 2020, de <https://www.epa.gov>.
- Espinosa-Carreón, T. L., Strub, P. T., Beier, E., Ocampo-Torres, F. y Gaxiola-Castro, G. 2004. Seasonal and interannual variability of satellite-derived chlorophyll pigment, surface height, and temperature off Baja California. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 109(C3).
- Everit, R. D., Gearin P.J., J.S., S. y DeLong, R. L. 1981. Prey items of Harbor Seals and California Sea Lions in Puget Sound, Washington. *The Murrelet*, 62 (3), 83-86.
- FAO. 1999. Fishery Harbour Manual on the Prevention of Pollution - Bay of Bengal Programme. Consultado el 1 de febrero de 2020, de <http://www.fao.org>.
- Fernández Martín, E. 2012. Fenología de los nacimientos y de la muda de *Phoca vitulina richardsi* (Gray, 1864) en el Estero de Punta Banda, B.C., México. Tesis de maestría. Centro de Investigación y de Educación Superior de Ensenada. 94 pp.

- Fernández Martín, E. 2018. Fenología de las nacimientos, estado de salud y estructura genética poblacional de *Phoca vitulina richardii* en México. Teiss de Doctorado. Universidad Autónoma de Baja California. 88 pp.
- Fernandez-Martín, E. M., Heckel, G., Schramm, Y. y García-Aguilar, M. C. 2016. The timing of pupping and molting of the Pacific harbor seal, *Phoca vitulina richardii*, at Punta Banda Estuary, Baja California, Mexico. *Ciencias Marinas*, 42(3), 195-208.
- Fernández-Robledo, A. 2015. Elementos traza en el pelo de *Zalophus californianus*: una evaluación comparativa entre distintas zonas en México. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 67 pp.
- Forcada, J., Notarbartolo di Sciara, G. y Fabbri, F. 1995. Abundance of fin whales and striped dolphins summering in the Corso-Ligurian Basin. *Mammalia*, 59(1), 127-140.
- Fossi, M. C. 1994. Nondestructive biomarkers in ecotoxicology. *Environmental Health Perspectives*, 102(12), 49-54.
- France, R. L. 1995. Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: Foodweb implications. *Marine Ecology Progress Series* 124, 307-312.
- Frank, A., Galgan, V., Roos, A., Olsson, M., Petersson, L. R. y Bignert, A. 1992. Metal concentrations in seals from Swedish waters. *Ambio*. Stockholm, 21(8), 529-538.
- Froese, R. y Pauly, D. 2019. FishBase. World Wide Web electronic publication. Consultado el 10 de agosto de 2019, de www.fishbase.org.
- Frost, K. J., Simpkins, M. A. y Lowry, L. F. 2001. Diving behavior of subadult and adult harbor seals in Prince William Sound, Alaska. *Marine Mammal Science*, 17(4), 813-834.
- Fry, B. 1988 Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnology and Oceanography*, 33, 1182-1190.
- Fry, B. y Wainright, S. 1991. Diatom sources of ¹³C-rich carbon in marine food webs. *Marine Ecology Progress Series*, 76 149-157.
- Fu, Z., Wu, F., Mo, C., Liu, B., Zhu, J., Deng, Q., Liao, H. y Zhang, Y. 2011. Bioaccumulation of antimony, arsenic, and mercury in the vicinities of a large antimony mine, China. *Microchemical Journal*, 97(1), 12-19.
- Furness, R. W. 2017. *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC press, Londres.
- Furness, R. W., Muirhead, S. J. y Woodburn, M. 1986. Using bird feathers to measure mercury in the environment: Relationships between mercury content and moult. *Marine Pollution Bulletin* 17(27-30).
- Gallo, R. J. y Aurioles, G. D. 1984 Distribución y estado actual de la población de la foca común (*Phoca vitulina richardii* [Gray, 1864]), en la península de Baja California, México. *Serie Zoología*, 55, 323-332.

- Gannes, L. Z., Martínez del Rio, C. y Koch, P. 1998. Natural Abundance Variations in Stable Isotopes and their Potential Uses in Animal Physiological Ecology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 119(3), 725-737.
- García-Barrera, T., Gómez-Ariza, J. L., González-Fernández, M., Moreno, F., García-Sevillano, M. A. y Gómez-Jacinto, V. 2012. Biological responses related to agonistic, antagonistic and synergistic interactions of chemical species. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(8), 2237-2253.
- Garriz, A. y Chamizo, J. 1998. *Química*. Pearson Educación, México.
- Garvey, J. E. y Whiles, R. M. 2016. *Trophic Ecology*. CRC Press, Florida.
- Gaxiola-Castro, G. y Durazo, R. 2010. Dinámica del ecosistema pelágico frente a Baja California, 1997–2007: diez años de investigaciones mexicanas de la Corriente de California. Instituto Nacional de Ecología México.
- Gibble, C. M. y Harvey, J. T. 2015. Food habits of harbor seals (*Phoca vitulina richardii*) as an indicator of invasive species in San Francisco Bay, California. *Marine Mammal Science*, 31(3), 1014-1034.
- Goericke, R. y Fry, B. 1994. Variations of marine plankton $\delta^{13}\text{C}$ with latitude, temperature, and dissolved CO_2 in the world ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 8(1), 85-90.
- Goyer, R. A. 1990. Transplacental transport of lead. *Environmental Health Perspectives*, 89, 101-105.
- Goyer, R. A. 1991. *Toxic effects of metals*. McGraw-Hill Inc, New York.
- Graham, B. S., Koch, P. L., Newsome, S. D., McMahon, K. W. y Auriolles, D. 2010. Using isoscapes to trace the movements and foraging behavior of top predators in oceanic ecosystems. En: *Isoscapes*. West, J. (Ed.). Springer, USA. (pp. 299-318).
- Gray, R., Canfield, P. y Rogers, T. 2008. Trace element analysis in the serum and hair of Antarctic leopard seal, *Hydrurga leptonyx*, and Weddell seal, *Leptonychotes weddellii*. *Science of the Total Environment*, 399(1-3), 202-215.
- Greig, D. J. 2002. Pregnancy and parturition rates of harbor seals in Monterey Bay, California Tesis de maestría. Universidad de California. 1-197 pp.
- Griesel, S., Kakuschke, A., Siebert, U. y Prange, A. 2008. Trace element concentrations in blood of harbor seals (*Phoca vitulina*) from the Wadden Sea. *Science of The Total Environment*, 392(2–3), 313-323.
- Grigg, E. K., Klimley, A. P., Allen, S. G., Green, D. E., Elliott-Fisk, D. L. y Markowitz, H. 2009. Spatial and seasonal relationships between Pacific harbor seals (*Phoca vitulina richardii*) and their prey, at multiple scales. *Fishery Bulletin*, 107(3), 359-372.
- Gutiérrez-Galindo, E., Pérez-Rodríguez, J. y Muñoz-Barbosa, A. 2014. Cadmio, cobre y zinc en el mejillón *Mytilus californianus* (Conrad, 1837) de la costa oeste de Baja California. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30, 285-295.
- Habran, S., Pomeroy, P. P., Debier, C. y Das, K. 2013. Changes in trace elements during lactation in a marine top predator, the grey seal. *Aquatic Toxicology*, 126, 455-466.

- Hall, J. E. 2014. Bioconcentration, Bioaccumulation, and the Biomagnification in Puget Sound Biota: Assessing the Ecological Risk of Chemical Contaminants in Puget Sound. *Tahoma West Literary Arts Magazine*, 8(1), 40-51.
- Hamanaka, T., Ito, T. y Mishima, S. 1982. Age-related change and distribution of cadmium and zinc concentrations in the Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*) from the coast of Hokkaido, Japan. *Marine Pollution Bulletin*, 13(2), 57-61.
- Hammond, P. B. y Beliles, R. P. 1980. *Metals En: Casarret and Doull's Toxicology: The basic science of poisons*. Doull, J. (Ed.). MacMillan, New York. (pp. 409–467).
- Härkönen, T. 1987a. Influence of Feeding on Haul-Out Patterns and Sizes of Sub-Populations in Harbor Seals. *Netherlands Journal of Sea Research*, 21(4), 331-339.
- Härkönen, T. 1987b. Seasonal and regional variations in the feeding habits of the harbour seal, *Phoca vitulina*, in the Skagerrak and the Kattegat. *Journal of Zoology*, 213(3), 535-543.
- Härkönen, T. y Harding, K. C. 2001. Spatial structure of harbour seal populations and the implications thereof. *Canadian Journal of Zoology*, 79(12), 2115-2127.
- Harvey, J. 2016. *Phoca vitulina ssp. richardii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016. Consultado el 1 de abril 2020, de <https://www.iucnredlist.org/species/17014/66991317>.
- Harvey, J. T., Helm, R. C. y Morejohn, G. V. 1995. Food habits of harbor seals inhabiting Elkhorn Slough, California. *California Fish and Game* 81(1), 1-9.
- Heithaus, M. R., Frid, A., Wirsing, A. J. y Worm, B. 2008. Predicting ecological consequences of marine top predator declines. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(4), 202-210.
- Henderson, R. J., Kalogeropoulos, N. y Alexis, M. N. 1994. The lipid composition of selected tissues from a Mediterranean monk seal, *Monachus monachus*. *Lipids*, 29, 577–582.
- Herreman, J. K., Blundell, G. M. y Ben-David, M. 2009. Evidence of bottom-up control of diet driven by top-down processes in a declining harbor seal *Phoca vitulina richardsi* population. *Marine Ecology Progress Series*, 374, 287-300.
- Hill, D. S., Wlodarczyk, B. J., Mitchell, L. E. y Finnell, R. H. 2009. Arsenate-induced maternal glucose intolerance and neural tube defects in a mouse model. *Toxicology and applied pharmacology*, 239(1), 29-36.
- Hirata, S. H., Yasuda, Y., Urakami, S., Isobe, T., Yamada, T. K., Tajima, Y., Amamo, M., Miyazaki, N., Takahashi, S. y Tanabe, S. 2010. Environmental Monitoring of Trace Elements Using Marine Mammals as Bioindicators -Species-specific Accumulations and Temporal Trends-. En: *Interdisciplinary studies on Environmental Chemistry - Environmental Specimen Bank* pp. 75-79.
- Hirons, A. C., Schell, D. M. y St. Aubin, D. J. 2001. Growth rates of vibrissae of harbor seals (*Phoca vitulina*) and Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*). *Canadian Journal of Zoology*, 79(6), 1053-1061.
- Hobson, K. A. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia*, 120 314–326.

- Hobson, K. A., Alisauskas, R. T. y Clark, R. G. 1993. Stable-nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: implications for isotopic analyses of diet. *Condor*, 388-394.
- Hobson, K. A. y Clark, R. G. 1992a. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of ^{13}C in tissues. *Condor*, 94, 181-188.
- Hobson, K. A. y Clark, R. G. 1992b. Assessing avian diets using stable isotopes. II. Factors influencing diet-tissue fractionation. *Condor*, 94, 189-197.
- Hobson, K. A., Piatt, J. F. y Pitocchelli, J. 1994 Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. *Journal of Animal Ecology*, 63, 786-798.
- Hobson, K. A., Schell, D. M., Renouf, D. y Noseworthy, E. 1996. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstructions involving marine mammals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(3), 528-533.
- Hobson, K. A., Sease, J. L., Merrick, R. L. y Piatt, J. F. 1997. Investigating trophic relationships of pinnipeds in Alaska and Washington using stable isotope ratios of nitrogen and carbon. *Marine Mammal Science*, 13(1), 114-132.
- Hobson, K. A. y Welch, H. E. 1992. Determination of trophic relationships within a high Arctic marine food web using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 84(1), 9-18.
- Hogstrand, C. y Wood, C. M. 1998. Toward a better understanding of the bioavailability, physiology, and toxicity of silver in fish: implications for water quality criteria. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 17(4), 547-561.
- Holden, A. 1978. Pollutants and seals—a review. *Mammal review*, 8(1-2), 53-66.
- Honda, K., Sahrul, M., Hidaka, H. y Tatsukawa, R. 1983a. Organ and tissue distribution of heavy metals, and their growth-related changes in Antarctic fish, *Pagothenia borchgrevinki*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47(11), 2521-2532.
- Honda, K., Tatsukawa, R., Itano, K., Miyazaki, N. y Fujiyama, T. 1983b. Heavy metal concentrations in muscle, liver and kidney tissue of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*, and their variations with body length, weight, age and sex. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47(6), 1219-1228.
- Honda, K., Yamamoto, Y., Kato, H. y Tatsukawa, R. 1987. Heavy metal accumulations and their recent changes in southern minke whales *Balaenoptera acutorostrata*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 16(2), 209-216.
- Huerta-Diaz, M. A., Delgadillo-Hinojosa, F., Otero, X., Segovia-Zavala, J. A., Hernandez-Ayon, J. M., Galindo-Bect, M. S. y Amaro-Franco, E. 2011. Iron and trace metals in microbial mats and underlying sediments: results from Guerrero Negro saltern, Baja California Sur, Mexico. *Aquatic geochemistry*, 17(4-5), 603.
- Hutchinson, G. E. 1978. *An Introduction to Population Biology*. Yale University Press, USA.
- Ikemoto, T., Kunito, T., Tanaka, H., Baba, N., Miyazaki, N. y Tanabe, S. 2004. Detoxification mechanism of heavy metals in marine mammals and seabirds: interaction of selenium with mercury, silver, copper, zinc, and cadmium in liver. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(3), 402-413.

- IUCN. 2008. International Union for Conservation of Nature. Red list of threatened species. Consultado el 1 de marzo de 2020, de <http://www.iucnredlist.org>.
- Jabeen, G., Javed, M. y Azmat, H. 2012. Assessment of heavy metals in the fish collected from the river Ravi, Pakistan. *Pakistan Veterinary Journal*, 32(1), 107-111.
- Jackson, A. L. 2019. Introduction to SIBER. Consultado el 22 April 2019, de <https://cran.r-project.org/web/packages/SIBER/vignettes/Introduction-to-SIBER.html>.
- Jackson, A. L., Inger, R., Parnell, A. C. y Bearhop, S. 2011. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, 80(3), 595-602.
- Jaeger, A., Blanchard, P., Richard, P. y Cherel, Y. 2009. Using carbon and nitrogen isotopic values of body feathers to infer inter-and intra-individual variations of seabird feeding ecology during moult. *Marine biology*, 156(6), 1233-1240.
- Jakimska, A., Konieczka, P., Skóra, K. y Namiesnik, J. 2011. Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, part II: metal concentrations in animal tissues. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(5), 1127-1146.
- James, L. F., Hartley, W. J. y Van Kampen, K. R. 1981. Syndromes of Astragalus poisoning in livestock. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 178(2), 146-115.
- Juárez-Rodríguez, M., Heckel, G., Herguera-García, J. C., Elorriaga-Verplancken, F. R., Herzka, S. y Schramm, Y. 2020. Trophic ecology of Mexican Pacific harbor seal colonies using carbon and nitrogen stable isotopes. *PloS one*, 15(1), e0225889.
- Kakuschke, A. y Prange, A. 2007. The influence of metal pollution on the immune system a potential stressor for marine mammals in the North Sea. *International Journal of Comparative Psychology*, 20(2), 179-193.
- Kakuschke, A., Valentine-Thon, E., Griesel, S., Fonfara, S., Siebert, U. y Prange, A. 2005. Immunological impact of metals in harbor seals (*Phoca vitulina*) of the North Sea. *Environmental Science & Technology*, 39(19), 7568-7575.
- Kelly, J. F. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian journal of zoology*, 78(1), 1-27.
- Kempson, I. M., Skinner, W. M. y Kirkbride, K. P. 2007. The occurrence and incorporation of copper and zinc in hair and their potential role as bioindicators: a review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10(8), 611-622.
- Kempster, B., Zanette, L., Longstaffe, F. J., MacDougall-Shackleton, S. A., Wingfield, J. C. y Clinchy, M. 2007. Do stable isotopes reflect nutritional stress? Results from a laboratory experiment on song sparrows. *Oecologia*, 151(3), 365-371.
- Knauer, G. A. y Martín, J. H. 1981. Phosphorus-cadmium cycling in northeast Pacific waters. *Journal of Marine Research*, 39, 65-76.
- Koeman, J. H., Peeters, W., Koudstaal-Hol, C. H. M., Tjioe, P. y De Goeij, J. 1973. Mercury-selenium correlations in marine mammals. *Nature*, 245(5425), 385-386.

- Kopp, D., Lefebvre, S., Cachera, M., Villanueva, M. C. y Ernande, B. 2015. Reorganization of a marine trophic network along an inshore–offshore gradient due to stronger pelagic–benthic coupling in coastal areas. *Progress in Oceanography*, 130, 157-171.
- Kumakli, H., A'ja, V. D., McDaniel, K., Mehari, T. F., Stephenson, J., Maple, L., Crawford, Z., Macemore, C. L., Babyak, C. M. y Fakayode, S. O. 2017. Environmental biomonitoring of essential and toxic elements in human scalp hair using accelerated microwave-assisted sample digestion and inductively coupled plasma optical emission spectroscopy. *Chemosphere*, 174, 708-715.
- Kurle, C. M. 2002. Stable-isotope ratios of blood components from captive northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) and their diet: applications for studying the foraging ecology of wild otariids. *Canadian Journal of Zoology*, 80(5), 902-909.
- Laidre, K. L., Stirling, I., Lowry, L. F., Wiig, Ø., Heide-Jørgensen, M. P. y Ferguson, S. H. 2008. Quantifying the sensitivity of Arctic marine mammals to climate-induced habitat change. *Ecological Applications*, 18(sp2), S97-S125.
- Lander, M. E., Harvey, J. T. y Gulland, F. M. 2003. Hematology and serum chemistry comparisons between free-ranging and rehabilitated harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*) pups. *Journal of Wildlife Diseases*, 39(3), 600-609.
- Lares-Reyes, M. L. 1988 Variación temporal de cadmio y mercurio biodisponibles en una zona de surgencias costera. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 99 pp.
- Law, R. J. 1996. Metals in marine mammals. En: *Environmental contaminants in wildlife: Interpreting tissue concentrations*. Beyer, W. (Ed.). CRC Press, Boca Raton. (pp. 357-376).
- Layman, C. A., Arrington, D. A., Montaña, C. G. y Post, D. M. 2007. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology*, 88(1), 42-48.
- Le Boeuf, B. J., Crocker, D. E., Costa, D. P., Blackwell, S. B., Webb, P. M. y Houser, D. S. 2000. Foraging ecology of northern elephant seals. *Ecological Monographs* 70, 353–382.
- Lemos, L. S., de Moura, J. F., Hauser-Davis, R. A., de Campos, R. C. y Siciliano, S. 2013. Small cetaceans found stranded or accidentally captured in southeastern Brazil: bioindicators of essential and non-essential trace elements in the environment. *Ecotoxicol Environ Safety*, 97, 166-175.
- Lesage, V., Hammill, M., O., y Kovacs, K. M. 2002. Diet- tissue fractionation of stable carbon and nitrogen isotopes in phocids seals. *Marine Mammal Science*, 18(1), 182-193.
- Lewis, M. A. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. *Environmental Pollution*, 87, 319-336.
- Ling, J. K. y Thomas, C. D. 1967. The skin and hair of the southern elephant seal, *Mirounga leonina*. Prenatal and early post-natal development and moulting. *Australian Journal of Zoology*, 15(349–365).
- Liu, J., Liu, Y., Michalska, A. E., Choo, K. y Klaassen, C. D. 1996. Metallothionein plays less of a protective role in cadmium-metallothionein-induced nephrotoxicity than in cadmium chloride-induced hepatotoxicity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 276(3), 1216-1223.

- Lobo, J. C., Torres, J. P. M., Fouque, D. y Mafra, D. 2010. Zinc deficiency in chronic kidney disease: is there a relationship with adipose tissue and atherosclerosis? *Biological trace element research*, 135(1-3), 16-21.
- Lonnerdal, B. 2010. Calcium and iron absorption--mechanisms and public health relevance. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 80(4-5), 293-299.
- Lowry, L. 2016 *Phoca vitulina*. The IUCN Red List of Threatened Species. Consultado el 1 marzo 2020, de <https://www.iucnredlist.org/species/17013/45229114>.
- Lowry, L. F., Frost, K. J., Ver Hoef, J. M. y DeLong, R. A. 2001. Movements of satellite tagged subadult and adult harbor seals in Prince William Sound, Alaska *Marine Mammal Science*, 17(4), 835-861.
- Lubinsky-Jinich, D. 2010. Estado actual de la foca común del Pacífico Oriental (*Phocavitulina richardsi*), en México. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California. 94 pp.
- Lubinsky-Jinich, D. 2019. Abundancia y movimientos de la foca de puerto (*Phoca vitulina richardii*) en Baja California, México. Tesis de doctorado. CICESE. 53 pp.
- Lubinsky-Jinich, D., Schramm-Urrutia, Y. y Heckel-Dziendzielewski, G. 2017. The Pacific Harbor Seal's (*Phoca vitulina richardii*) Breeding Colonies in Mexico: Abundance and Distribution. *Aquatic Mammals*, 43(1).
- Luxa, K. y Acevedo-Gutiérrez, A. 2013. Food habits of harbor seals (*Phoca vitulina*) in two estuaries in the central Salish Sea. *Aquatic Mammals*, 39, 10–22.
- Lynn, R. J. y Simpson, J. J. 1987. The California Current System: The seasonal variability of its physical characteristics. *Journal of Geophysical Research*, 92(12), 947-912.
- Mackey, E. A., Becker, P. R., Demiralp, R., Greenberg, R. R., Koster, B. y Wise, S. A. 1996. Bioaccumulation of vanadium and other trace metals in livers of Alaskan cetaceans and pinnipeds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 30(4), 503-512.
- Maravilla, C. O. y Lowry, M. S. 1999. Incipient breeding colony of Guadalupe fur seals at Isla San Benito del Este, Baja California, Mexico. *Marine Mammal Science*, 15, 239-241.
- Marcovecchio, J. E., Gerpe, M. S., Bastida, R. O., Rodriguez, D. H. y Moron, S. G. 1994. Environmental contamination and marine mammals in coastal waters from Argentina: an overview. *Science of the Total Environment*, 154(2-3), 141-151.
- Martínez-del-Río, C., Sabat, P., Anderson-Sprecher, R. y Gonzalez, S. P. 2009. Dietary and isotopic specialization: the isotopic niche of three Cinclodes ovenbirds. *Oecologia*, 161(1), 149-159.
- Martinez-Inostros, M. 1994. Caracterización de oxígeno disuelto, salinidad, temperatura y nutrientes antes y después de una temporada de lluvia (Septiembre de 1992 y Marzo de 1993) en el Estero de Punta Banda. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. 42 pp.
- Masski, H., De Stephanis, R., Labonne, M., Abdellaoui, S., Lae, R. y Tai, I. 2015. Exploring fidelity of Sardines (*Sardina pilchardus*) to feeding grounds in the Atlantic Moroccan waters using stable isotope analyses (C, N) and otolith microchemistry.

- Mate, B. R. 1977. Aerial Censuring of pinnipeds in the Eastern Pacific for assessment of population numbers, migratory distributions, rookery stability, breeding effort and recruitment. Final report to U.S. Marine Mammal Commission. Washington D.C.
- McBain, J. 1996. Clinical pathology interpretation in delphinidae with emphasis on inflammation. Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians, 308.
- McHuron, E. A. 2012. Health implications of mercury, selenium, and a red pelage in Pacific harbor seals (*Phoca vitulina richardii*) off central California. Tesis de maestría. San Jose State University. 112 pp.
- McHuron, E. A., Harvey, J. T., Castellini, J. M. y O'Hara, T. M. 2012. Hair sampling location in harbor seals (*Phoca vitulina*) affects selenium and mercury concentrations: Implications for study design of trace element determination in pinnipeds. Marine Pollution Bulletin, 64(11), 2519-2522.
- McHuron, E. A., Harvey, J. T., Castellini, J. M., Stricker, C. A. y O'Hara, T. M. 2014. Selenium and mercury concentrations in harbor seals (*Phoca vitulina*) from central California: Health implications in an urbanized estuary. Marine Pollution Bulletin, 83(1), 48-57.
- McMahon KW, Hamady LL y Thorrold SR. 2013. A review of ecogeochemistry approaches to estimating movements of marine animals. Limnology and Oceanography, 58(2), 697-714.
- McMahon, K. W., Hamady, L. L. y Thorrold, S. R. 2013. A review of ecogeochemistry approaches to estimating movements of marine animals. Limnology and oceanography, 58(2), 697-714.
- McMahon, K. W. y McCarthy, M. D. 2016. Embracing variability in amino acid $\delta^{15}\text{N}$ fractionation: mechanisms, implications, and applications for trophic ecology. Ecosphere, 7(12).
- McPeck, M. A. 1996. Trade-offs, food web structure, and the coexistence of habitat specialists and generalists. The American Naturalist, 148, S124-S138.
- Meador, J., Ernest, D., Hohn, A., Tilbury, K., Gorzelany, J., Worthy, G. y Stein, J. 1999. Comparison of elements in bottlenose dolphins stranded on the beaches of Texas and Florida in the Gulf of Mexico over a one-year period. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 36(1), 87-98.
- Medway, W. y Geraci, J. R. 1986. Clinical pathology of marine mammals. En: Zoo and Wild Animal Medicine, . Fowler, M. E. (Ed.). Saunders, Philadelphia. (pp. 791).
- Michener, R. H. y Kaufman, L. 2008. Stable Isotope Ratios as Tracers in Marine Food Webs: An Update. En: Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science. Lajtha H. y Michener, R. (Ed.). Blackwell, Boston. (pp. 238-282).
- Michibata, H. y Sakurai, H. 1990. Vanadium in ascidians. En: Vanadium in biological systems. Chasteen, D. (Ed.). Springer, New Hampshire. (pp. 153-171).
- Miles, A. K., Calkins, D. G. y Coon, N. C. 1992. Toxic elements and organochlorines in harbor seals (*Phoca vitulina richardsi*), Kodiak, Alaska, USA. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 48(5), 727-732.
- Miles, A. K. y Hills, S. 1994. Metals in diet of Bering Sea walrus: *Mya sp.* as a possible transmitter of elevated cadmium and other metals. Marine pollution bulletin, 28(7), 456-458.

- Minagawa, M. y Wada, E. 1984. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48(5), 1135-1140.
- Montgomery, R. A., Ver Hoef, J. M. y Boveng, P. L. 2007. Spatial modeling of haul-out site use by harbor seals in Cook Inlet, Alaska. *Marine Ecology Progress Series*, 341, 257-264.
- Moore, S. E. 2008. Marine mammals as ecosystem sentinels. *Journal of Mammalogy*, 89(3), 534-540.
- Moore, W. S. y Dymond, J. 1991. Fluxes of ^{226}Ra and barium in the Pacific Ocean: The importance of boundary processes. *Earth and Planetary Science Letters*, 107(1), 55-68.
- Moreno-Graw, M. D. 2003. *Toxicología Ambiental*. Mc Graw Hill, Madrid.
- Mössner, S. y Ballschmiter, K. 1997. Marine mammals as global pollution indicators for organochlorines. *Chemosphere*, 34(5-7), 1285-1296.
- Nakamura, K., Schoeller, D. A., Winkler, F. J. y Schmidt, H. L. 1982. Geographical variations in the carbon isotope composition of the diet and hair in contemporary man. *Biological Mass Spectrometry*, 9(9), 390-394.
- Newsome, S. D., Clementz, M. T. y Koch, P. L. 2010. Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. *Marine Mammal Science*, 26(3), 509-572.
- Newsome, S. D., Koch, P. L., Etnier, M. A. y Aurióles-Gamboa, D. 2006. Using carbon and nitrogen isotope values to investigate maternal strategies in northeast Pacific otariids. *Marine Mammal Science*, 22(3), 556-572.
- Newsome, S. D., Martinez del Rio, C., Bearhop, S. y Phillips, D. L. 2007. A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(8), 429-436.
- Ng, A. y Patterson, C. 1981. Natural concentrations of lead in ancient Arctic and Antarctic ice. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45(11), 2109-2121.
- Nielsen, F. H. 1987. Vanadium. En: Trace elements in human and animal nutrition. Mertz, W. (Ed.). Academic Press, San Diego. (pp. 275-300).
- Nikinmaa, M. 2014. *An introduction to aquatic toxicology*. Elsevier, Amsterdam.
- Nishikawa, K. A., Gutiérrez-Galindo E. A., Sañudo S. A., Flores-Muñoz G., Martin, M. y Stephenson, M. D. 1988. Marine pollution in the central southern California bight adjacent to the American-Mexican border zone. *Revue internationale d'océanographie médicale*, 91, 125-150.
- Noël, M., Jeffries, S., Lambourn, D. M., Telmer, K., Macdonald, R. y Ross, P. S. 2016. Mercury accumulation in harbour seals from the northeastern Pacific Ocean: the role of transplacental transfer, lactation, age and location. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 70(1), 56-66.
- Nordberg, G. F., Gerhardsson, L., Broberg, K., Mumtaz, M., Ruiz, P. y Fowler, B. A. 2007. Interactions in Metal Toxicology. En: *Handbook on the Toxicology of Metals* Fowler, B. A. (Ed.). Academic Press, Burlington. (pp. 117-145).
- Norstrom, R., Belikov, S., Born, E., Garner, G., Malone, B., Olpinski, S., Ramsay, M., Schliebe, S., Stirling, I. y Stishov, M. 1998. Chlorinated hydrocarbon contaminants in polar bears from eastern Russia,

- North America, Greenland, and Svalbard: biomonitoring of Arctic pollution. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 35(2), 354-367.
- O'Shea, T. J., Ackerman, B. B. y Percival, H. F. 1995. Population biology of the Florida manatee. US Department of the Interior, National Biological Service. Information and Technology Report, Washington.
- Odell, D. K. 1972. Studies on the biology of the California sea lion and the northern elephant seal on San Nicolas Island. Tesis de doctorado. University of California. 190 pp.
- Oftedal, O. T., Bowen, W. D., Widdowson, E. M. y Boness, D. J. 1991. The prenatal molt and its ecological significance in hooded and harbor seals. *Canadian Journal of Zoology*, 69(9), 2489-2493.
- Outridge, P. M., Evans, R. D., Wagemann, R. y Stewart, R. E. A. 1997. Historical trends of heavy metals and stable lead isotopes in beluga (*Delphinapterus leucas*) and walrus (*Odobenus rosmarus rosmarus*) in the Canadian Arctic. *Science of The Total Environment*, 203(3), 209-219.
- Owens, P. J. N. 1987. Natural variations in ¹⁵N in the marine environment. *Advances in Marine Biology*, (24), 389-451.
- Pablo-Rodríguez, N., Aurióles-Gamboa, D. y Montero-Muñoz, J. L. 2015. Niche overlap and habitat use at distinct temporal scales among the California sea lions (*Zalophus californianus*) and Guadalupe fur seals (*Arctocephalus philippii townsendi*). *Marine Mammal Science*, 32(2), 466-489.
- Pabst, D.A., , Rommel, S. A. y McLellan, W. A. 1999. The functional morphology of marine mammals. En: *Biology of marine mammals*. Reynolds, J. E. y Rommel, S. A. (Ed.). Smithsonian Institution Press, Washington, DC. (pp. 15-72).
- Pacheco-Sandoval, A., Schramm, Y., Heckel, G., Brassea-Perez, E., Martinez-Porchas, M. y Lago-Leston, A. 2019. The Pacific harbor seal gut microbiota in Mexico: Its relationship with diet and functional inferences. *PloS one*, 14(8).
- Páez-Osuna, F., Botello, A., Ponce-Velez, G. y Osuna-López, J. 2002. Concentrations of selected trace metals (Cu, Pb, Zn), organochlorines (PCBs, HCB) and total PAHs in mangrove oysters from the Pacific Coast of Mexico: an overview. *Marine Pollution Bulletin*, 44(11), 1303-1308.
- Páez-Rosas, D. y Aurióles-Gamboa, D. 2010. Alimentary niche partitioning in the Galapagos sea lion (*Zalophus wollebaeki*). *Marine Biology*, 157(12), 2769-2781.
- Páez-Rosas, D. y Aurióles-Gamboa, D. 2014. Spatial variation in the foraging behaviour of the Galapagos sea lions (*Zalophus wollebaeki*) assessed using scat collections and stable isotope analysis. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 94(6), 1099-1107.
- Páez-Rosas, D., Rodríguez-Pérez, M. y Riofrío-Lazo, M. 2014. Competition influence in the segregation of the trophic niche of otariids: a case study using isotopic bayesian mixing models in Galapagos pinnipeds. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 28(23), 2550-2558.
- Pais, I. y Jones Jr, J. B. 1997. *The handbook of trace elements*. CRC Press, Boca Raton.
- Palacios, E., A. , Escofet y Salinas., D. H. L. 1991. El Estero de Punta Banda, Baja California, México como eslabón del "Corredor del Pacifico": abundancia de aves playeras. *Ciencias Marinas*, 17, 109-131.

- Pan, K. y Wang, W.-X. 2012. Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. *Science of the total environment*, 421, 3-16.
- Pauly, D., Trites, A. W., Capuli, E. y Christensen, V. 1998. Diet composition and trophic levels of marine mammals. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 55(3), 467-481.
- Payne, P. M. y Selzer, L. A. 1989. The distribution, abundance and selected prey of the harbor seal, *Phoca vitulina concolor*, in southern New England. *Marine Mammal Science*, 5(2), 173-192
- Peterson, S. H., McHuron, E. A., Kennedy, S. N., Ackerman, J. T., Rea, L. D., Castellini, J. M., O'Hara, T. M. y Costa, D. P. 2015. Evaluating hair as a predictor of blood mercury: the influence of ontogenetic phase and life history in pinnipeds. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 1-18.
- Phillips, D. L. 2012. Converting isotope values to diet composition: the use of mixing models. *Journal of Mammalogy*, 93(2), 342-352.
- Pilarczyk, B., Tomza-Marciniak, A. y Mituniewicz-Matek, A. 2010. Selenium content in selected products of animal origin and estimation of the degree of cover daily Se requirement in Poland. *International Journal of Food Science* 4(186–191).
- Pitcher, K. y McAllister, D. 1981. Movements and haul out behavior of radio tagged harbor seals, *Phoca vitulina*. *Canadian field naturalist*, 95(3), 292-297.
- Pitcher, K. W. 1980. Stomach contents and feces as indicators of harbor seal (*Phoca vitulina*) foods in the Gulf of Alaska. *Fishery Bulletin*, 78, 797-798.
- Porras-Peters, H., Auriolos-Gamboa, D., Cruz-Escalona, V. H. y Koch, P. L. 2008. Trophic level and overlap of sea lions (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, Mexico. *Marine Mammal Science*, 24(3), 554-576.
- Potter, R. M. y Rossman, G. R. 1979. A magnesium analogue of chalcophanite in manganese-rich concretions from Baja California. *American Mineralogist*, 64(11-12), 1227-1229.
- Purves, D. 2012. *Trace-element Contamination of the Environment*. Elsevier, Amsterdam.
- R. 2007. *A Language and Environment for Statistical Computing*. Computing, R. F. f. S., Viena, Austria.
- Reijnders, P. J. H. 1994. Marine Pollution - Mammals and Toxic Contaminants Toxicokinetics of chlorobiphenyls and associated physiological responses in marine mammals, with particular reference to their potential for ecotoxicological risk assessment. *Science of The Total Environment*, 154(2), 229-236.
- Rice, D. W. 1998. *Marine mammals of the world. Systematics and distribution*, Special Publication(4).
- Ridgway, J., Breward, N., Langston, W., Lister, R., Rees, J. y and Rowlatt, S. 2003. Distinguishing between natural and anthropogenic sources of metals entering the Irish Sea. *Applied Geochemistry*, 18(2), 283-309.
- Riget, F. y Dietz, R. 2000. Temporal trends of cadmium and mercury in Greenland marine biota. *Science of the Total Environment*, 245(1-3), 49-60.

- Riget, F., Dietz, R., Vorkamp, K., Johansen, P. y Muir, D. 2004. Levels and spatial and temporal trends of contaminants in Greenland biota: an updated review. *Science of the Total Environment*, 331(1-3), 29-52.
- Rink, L. y Gabriel, P. 2000. Zinc and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59(04), 541-552.
- Roberts, T. L. 2014. Cadmium and phosphorous fertilizers: the issues and the science. *Procedia Engineering*, 83, 52-59.
- Rodrigues, J. L., Batista, B. L., Nunes, J. A., Passos, C. J. y Barbosa Jr, F. 2008. Evaluation of the use of human hair for biomonitoring the deficiency of essential and exposure to toxic elements. *Science of the Total Environment*, 405(1-3), 370-376.
- Rodríguez Ortiz, J. C., Alcalá Jáuregui, J. A., Hernández Montoya, A., Rodríguez Fuentes, H., Ruiz Espinoza, F. H., García Hernández, J. L. y Díaz Flores, P. E. 2014. Elementos traza en fertilizantes y abonos utilizados en agricultura orgánica y convencional. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5, 695-701.
- Rodríguez-Mercado, J. J. y Altamirano-Lozano, M. A. 2006. Vanadio: Contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista internacional de contaminación ambiental* 22(4), 173-189.
- Roffe, T. J. y Mate, B. R. 1984. Abundances and feeding habits of pinnipeds in the Rogue River, Oregon. *The Journal of wildlife management*, 1262-1274.
- Ronald, K., Frank, R., Dougan, J., Frank, R. y Braun, H. 1984. Pollutants in harp seals (*Phoca groenlandica*). II. Heavy metals and selenium. *Science of the total environment*, 38, 153-166.
- Ross, P. S. 2000. Marine mammals as sentinels in ecological risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 6, 29-46.
- Ross, P. S., Couillard, C. M., Ikonomou, M. G., Johannessen, S. C., Lebeuf, M., Macdonald, R. W. y Tomy, G. T. 2009. Large and growing environmental reservoirs of Deca-BDE present an emerging health risk for fish and marine mammals. *Marine Pollution Bulletin*, 58(1), 7-10.
- Rouleau, C., Gobeil, C. y Tjälve, H. 2000. Accumulation of silver from the diet in two marine benthic predators: the snow crab (*Chionoecetes opilio*) and American plaice (*Hippoglossoides platessoides*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(3), 631-637.
- Rubio, C., González Weller, D., Martín-Izquierdo, R., Revert, C., Rodríguez, I. y Hardisson, A. 2007. El zinc: oligoelemento esencial. *Nutrición hospitalaria*, 22(1), 101-107.
- Ruiz-Mar, G. 2016. Determinación del periodo de lactancia y cuidado materno en la foca de puerto *Phoca vitulina richardii* y su relación con el disturbio humano en el estero de Punta Banda, Baja California, México. Tesis de maestría. Centro de Investigación y de Educación Superior de Ensenada. 70 pp.
- Saeki, K., Nakajima, M., Loughlin, T., Calkins, D., Baba, N., Kiyota, M. y Tatsukawa, R. 2001. Accumulation of silver in the liver of three species of pinnipeds. *Environmental Pollution*, 112(1), 19-25.
- Saeki, K., Nakajima, M., Noda, K., Loughlin, T., Baba, N., Kiyota, M., Tatsukawa, R. y Calkins, D. 1999a. Vanadium accumulation in pinnipeds. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 36(1), 81-86.

- Saeki, K., Nakajima, M., Noda, K., Loughlin, T. R., Baba, N., Kiyota, M., Tatsukawa, R. y Calkins, D. G. 1999b. Vanadium accumulation in pinnipeds. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 36(1), 81-86.
- Saito, M. A., Moffett, J. W. y DiTullio, G. R. 2004. Cobalt and nickel in the Peru upwelling region: A major flux of labile cobalt utilized as a micronutrient. *Global Biogeochemical Cycles*, 18(4).
- Saito, M. A., Rocap, G. y Moffett, J. W. 2005. Production of cobalt binding ligands in a *Synechococcus* feature at the Costa Rica upwelling dome. *Limnology and Oceanography*, 50(1), 279-290.
- Samaniego, H. A., G.A., P. y Aguirre, M. A. (Eds). 2007. Vertebrados de las Islas del Pacífico de Baja California. México, GECL, SEMARNAT, Instituto Nacional de Ecología. 178 pp.
- Sandell, M. 1990. The evolution of seasonal delayed implantation. *The Quarterly Review of Biology*, 65(1), 23-42.
- Sañudo-Wilhelmy, S., Sergio, A. y Flegal, A. R. 1991. Trace element distributions in coastal waters along the US-Mexican boundary: relative contributions of natural processes vs. anthropogenic inputs. *Marine Chemistry*, 33(4), 371-392.
- Sarokin, D. y Schulkin, J. 1992. The role of pollution in large-scale population disturbances. 1: aquatic populations. *Environmental science & technology*, 26(8), 1476-1484.
- Schrauzer, G. 2008. Effects of selenium and low levels of lead on mammary tumor development and growth in MMTV-infected female mice. *Biological trace element research*, 125(3), 268.
- Seixas, T. G., Kehrig, H. A., Di Benedetto, A. P. M., Souza, C. M., Malm, O. y Moreira, I. 2009. Essential (Se, Cu) and non-essential (Ag, Hg, Cd) elements: What are their relationships in liver of *Sotalia guianensis* (Cetacea, Delphinidae)? *Marine pollution bulletin*, 58(4), 629-634.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres - categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Consultado el 10 de septiembre de 2019, de <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4254/semarnat/semarnat.htm>.
- Sigman, D. M., Granger, J., DiFiore, P. J., Lehmann, M. M., Ho, R., Cane, G. y van Geen, A. 2005. Coupled nitrogen and oxygen isotope measurements of nitrate along the eastern North Pacific margin. *Global Biogeochemical Cycles*, 19(4).
- Smith, R. J., Hobson, K. A., Koopman, H. N. y Lavigne, D. M. 1996. Distinguishing between populations of fresh and saltwater harbour seals (*Phoca vitulina*) using stable isotope ratios and fatty acid profiles. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(2), 272-279.
- Soto-Jimenez, M. F., Hibdon, S. A., Rankin, C. W., Aggarawl, J., Ruiz-Fernandez, A. C., Paez-Osuna, F. y Flegal, A. R. 2006. Chronically a century of lead pollution in Mexico: stable lead isotopic composition analyses of dated sediment cores. *Environmental science & technology*, 40(3), 764-770.
- Staniland, I. J., Reid, K. y Boyd, I. L. 2004. Comparing individual and spatial influences on foraging behaviour in Antarctic fur seals *Arctocephalus gazella* *Marine Ecology Progress Series*, 275, 263-274.
- STATSOFT. 2015. Statistica: data analysis software system. Tulsa: StatSoft.

- Steingass, S. 2017. Dietary composition of four stocks of Pacific Harbor Seal (*Phoca vitulina richardii*) in the Northern California Current large marine ecosystem as synthesized from historical data, 1931–2013. *Northwestern Naturalist*, 98(1), 8-23.
- Strandberg, U., Käkelä, A., Lydersen, C., Kovacs, K. M., Grahl-Nielsen, O., Hyvärinen, H. y Käkelä, R. 2008. Stratification, Composition, and Function of Marine Mammal Blubber: The Ecology of Fatty Acids in Marine Mammals. *Physiological and Biochemical Zoology*, 81(4), 473-485.
- Stutz, S. S. 1966. Foetal and Postpartum Whitecoat Pelage in *Phoca vitulina*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 23(4), 607-609.
- Stutz, S. S. 1967. Pelage Patterns and Population Distributions in the Pacific Harbour Seal (*Phoca vitulina richardi*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 24(2), 451-455.
- Suryan, R. M. y Harvey, J. T. 1998. Tracking harbor seals (*Phoca vitulina richardsi*) to determine dive behavior, foraging activity, and haul-out site use. *Marine Mammal Science*, 14(2), 361-372.
- Suryan, R. M. y Harvey, J. T. 1999. Variability in reactions of Pacific harbor seals, *Phoca vitulina richardsi*, to disturbance. *Fishery Bulletin*, 97, 332-339.
- Takai, N., Onaka, S., Ikeda, Y., Yatsu, A., Kidokoro, H. y Sakamoto, W. 2000. Geographical variations of carbon and nitrogen stable isotopes ratios in squid. *Journal of Marine Biology Association of the United Kingdom*, 80, 675-684.
- Tapia-Harris, C. 2015. Cronología y secuencia de la muda de la foca común (*Phoca vitulina richardii*) en dos islas en la costa oeste de la península de Baja California, México. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 65 pp.
- Temte, J. L. 1985. Photoperiod and delayed implantation in the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*). *Reproduction*, 73(1), 127-131.
- Temte, J. L., Bigg, M. A. y Wiig, Ø. 1991. Clines revisited: The timing of pupping in the harbour seal (*Phoca vitulina*). *Journal of Zoology*, 224(4), 617-632.
- Thompson, H. J., Chasteen, N. D. y Meeker, L. D. 1984. Dietary vanadyl (IV) sulfate inhibits chemically-induced mammary carcinogenesis. *Carcinogenesis* 5(6), 849–851.
- Thompson, P. M., Pierce, G. J., Hislop, J., Miller, D. y Diack, J. 1991. Winter foraging by common seals (*Phoca vitulina*) in relation to food availability in the inner Moray Firth, NE Scotland. *The Journal of Animal Ecology*, 283-294.
- Thomson, J. A., Heithaus, M. R., Burkholder, D. A., Vaudo, J. J., Wirsing, A. J. y Dill, L. M. 2012. Site specialists, diet generalists? Isotopic variation, site fidelity, and foraging by loggerhead turtles in Shark Bay, Western Australia. 453, 213-226.
- Tobin, D. J. 2005. Hair in toxicology: an important bio-monitor. Royal Society of Chemistry, Reino Unido.
- Tollit, D. J., Black, A. D., Thompson, P. M., Mackay, A., Corpe, H. M., Wilson, B., Van Parijs, S. M., Grellier, K. y Parlane, S. 1998. Variations in harbour seal *Phoca vitulina* diet and dive-depths in relation to foraging habitat. *Journal of Zoology*, 244(02), 209-222.

- Tollit, D. J., Steward, M. J., Thompson, P. M., Pierce, G. J., Santos, M. B. y Hughes, S. 1997. Species and size differences in the digestion of otoliths and beaks: implications for estimates of pinniped diet composition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(1), 105-119.
- Trillmich, F. y Ono, K. A. 1991. Pinnipeds and el Niño: responses to environmental stress *Ecological Studies*, 88, 146-155.
- Trumble, S. J. 1995. Abundance, movements, dive behavior, food habits and mother-pup interactions of harbor seal (*Phoca vitulina richadsi*) near Monterey Bay, California. Tesis de maestría. California State University 100 pp.
- Van Parijs, S. M., Thompson, P. M., Tollit, D. J. y Mackay, A. 1997. Distribution and activity of male harbour seals during the mating season. *Animal Behaviour*, 54, 35-43.
- Vanderklift, A. y Ponsard, S. 2003. Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichments: a meta-analysis. *Oecologia*, 136, 169–182.
- Vela-González, R. 1996. Manejo urbano del agua en la cuenca del Río Tijuana : un diagnóstico. Tesis de maestría. El Colegio de la Frontera Norte / Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 128 pp.
- Vethaak, A. D. y ap Rheinallt, T. 1992. Fish disease as a monitor for marine pollution: the case of the North Sea. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2(1), 1-32.
- Villaescusa-Celaya, J., Gutiérrez-Galindo, E. y Flores-Muñoz, G. 2000. Heavy metals in the fine fraction of coastal sediments from Baja California (Mexico) and California (USA). *Environmental Pollution*, 108(3), 453-462.
- Villanueva-Estrada, R. E., Prol-Ledesma, R. M., Rodríguez-Díaz, A. A., Canet, C. y Armienta, M. A. 2013. Arsenic in hot springs of Bahía Concepción, Baja California Peninsula, México. *Chemical Geology*, 348, 27-36.
- Vizzini, S., Costa, V., Tramati, C., Gianguzza, P. y Mazzola, A. 2013. Trophic transfer of trace elements in an isotopically constructed food chain from a semi-enclosed marine coastal area (Stagnone di Marsala, Sicily, Mediterranean). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 65(4), 642-653.
- Von Glasow, R., Jickells, T. D., Baklanov, A., Carmichael, G. R., Church, T. M., Gallardo, L., Hughes, C., Kanakidou, M., Liss, P. S. y Mee, L. 2013. Megacities and large urban agglomerations in the coastal zone: interactions between atmosphere, land, and marine ecosystems. *Ambio*, 42(1), 13-28.
- Vos, J. G., Bossart, G., Fournier, M. y O'Shea, T. 2002. *Toxicology of marine mammals*. CRC Press, Londres.
- Wada, E. y Hattori, A. 1990. *Nitrogen in the sea: forms, abundance, and rate processes*. CRC press, USA.
- Wagemann, R. y Muir, D. C. G. 1984. Concentrations of heavy metals and organochlorines in marine mammals of northern waters: overview and evaluation. Western Region, Department of Fisheries and Oceans Canada, Winnipeg.
- Wagemann, R., Snow, N., Lutz, A. y Scott, D. 1983. Heavy metals in tissues and organs of the narwhal (*Monodon monoceros*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40(S2), s206-s214.

- Wagemann, R., Stewart, R., Beland, P. y Desjardins, C. 1990. Heavy metals and selenium in tissues of beluga whales, *Delphinapterus leucas*, from the Canadian Arctic and the St. Lawrence Estuary. En: Advances in research on the beluga whale, *Delphinapterus leucas*. Canadian bulletin of fisheries and aquatic sciences. Smith, T. (Ed.). Canadá. (pp. 191-206).
- Wagemann, R., Stewart, R., Lockhart, W., Stewart, B. y Povoledo, M. 1988 Trace metals and methyl mercury: associations and transfer in Harp Seal (*Phoca groenlandica*) mothers and pups. Marine Mammal Science 4(4), 339–355.
- Wagemann, R., Trebacz, E., Boila, G. y Lockhart, W. L. 1998. Methylmercury and total mercury in tissues of arctic marine mammals. Science of The Total Environment, 218(1), 19-31.
- Wang, W., Evans, R. D. y Hickie, B. E. 2014. Methylmercury accumulation and elimination in mink (*Neovison vison*) hair and blood: results of a controlled feeding experiment using stable isotope tracers. Environ Toxicol Chem 33(2873–2880).
- Warburton, J. 1993. Metal concentrations in liver and kidney tissues of Pacific walrus: continuation of a baseline study. Marine Mammals Management, US Fish and Wildlife Service,
- Wells, R. S., Rhinehart, H. L., Hansen, L. J., Sweeney, J. C., Townsend, F. I., Stone, R., Casper, D. R., Scott, M. D., Hohn, A. A. y Rowles, T. K. 2004. Bottlenose dolphins as marine ecosystem sentinels: developing a health monitoring system. EcoHealth, 1(3), 246-254.
- Wenzel, C., Adelung, D., Kruse, H. y Wassermann, O. 1993. Trace metal accumulation in hair and skin of the harbour seal, *Phoca vitulina*. . Marine Pollution Bulletin, 26(3), 152-155.
- White, J. R. y Francis-Floyd, R. 1990. Manatee biology and medicine. En: Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease and Rehabilitation. Dierauf, L. A. (Ed.). CRC Press, Boca Raton. (pp. 601–623).
- Wiederhold, J. G. 2015. Metal stable isotope signatures as tracers in environmental geochemistry. Environmental science & technology, 49(5), 2606-2624.
- Wilhelmy, S. A. S. y Flegal, A. R. 1991. Trace element distributions in coastal waters along the US-Mexican boundary: Relative contributions of natural processes vs. anthropogenic inputs. Marine Chemistry, 33(4), 371-392.
- Womble, J. N. y Gende, S. M. 2013. Post-breeding season migrations of a top predator, the harbor seal (*Phoca vitulina richardii*), from a marine protected area in Alaska. PLoS One, 8(2), 1-15.
- Woshner, V. M., O'Hara, T. M., Bratton, G. R. y Beasley, V. R. 2001a. Concentrations and interactions of selected essential and non-essential elements in ringed seals and polar bears of Arctic Alaska. Journal of Wildlife Diseases, 37(4), 711-721.
- Woshner, V. M., O'Hara, T. M., Bratton, G. R., Suydam, R. S. y Beasley, V. R. 2001b. Concentrations and interactions of selected essential and non-essential elements in bowhead and beluga whales of Arctic Alaska. Journal of Wildlife Diseases, 37(4), 693-710.
- Würsig, B., Reeves, R. R. y Ortega-Ortiz, J. G. 2002. Global Climate Change and Marine Mammals. En: Marine Mammals: Biology and Conservation. Evans, P. (Ed.). Springer, Boston. (pp. 589-608).

- Yamamoto, Y., Honda, K., Hidaka, H. y & Tatsukawa, R. 1987. Tissue distribution of heavy metals in Weddell seals (*Leptonychotes weddellii*). *Marine pollution bulletin*, 18(4), 164-169.
- Yaman, M. 2006. Comprehensive comparison of trace metal concentrations in cancerous and non-cancerous human tissues. *Current medicinal chemistry*, 13(21), 2513-2525.
- Yang, D.-Y., Chen, Y.-W., Gunn, J. M. y Belzile, N. 2008. Selenium and mercury in organisms: interactions and mechanisms. *Environmental Reviews*, 16(NA), 71-92.
- Yochem, P. K. y Stewart, B. S. 2009. Hair and fur. En: *Encyclopedia of marine mammals*. Perrin, W. F., Würsig, B. y Thewissen, J. G. (Ed.). Academic Press, San Diego. (pp. 529-530).
- Zaytsev, O., Cervantes-Duarte, R., Montante, O. y Gallegos-Garcia, A. 2003. Coastal upwelling activity on the Pacific shelf of the Baja California Peninsula. *Journal of oceanography*, 59(4), 489-502.