



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



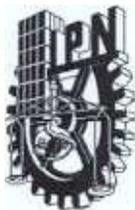
**PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS Y
BIFENIL POLICOLORADOS COMO
INDICADORES DE LA ESTRUCTURA
POBLACIONAL DE LA BALLENA AZUL
(*Balaenoptera musculus*)
DEL GOLFO DE CALIFORNIA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA:
NORMA ANGÉLICA FLORES LOZANO

LA PAZ, B.C.S., SEPTIEMBRE 2006



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

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 06 del mes de Julio del 2006 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

"PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS Y BIFENIL POLICORADOS COMO INDICADORES DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DE LA BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*) DEL GOLFO DE CALIFORNIA"

Presentada por el alumno:

FLORES

LOZANO

NORMA ANGÉLICA

Apellido paterno

nombre(s)

Con registro:

B	0	3	1	4	5	9
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA

Director de tesis
PRIMER VOCAL


DRA. DIANE GENDRON LANIEL

PRESIDENTE


DR. EVGUENI CHOUMILINE NIKOLAYEVICH

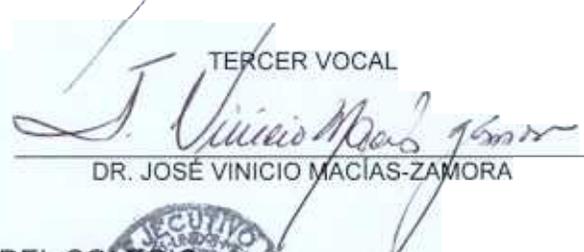
SECRETARIO


DR. SÉRGIO AGUÍNIGA GARCÍA

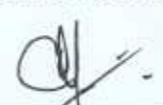
SEGUNDO VOCAL


MC. GUSTAVO DE LA CRUZ AGÜERO

TERCER VOCAL


DR. JOSÉ VINICIO MACÍAS-ZAMORA

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO


DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE





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

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 06 del mes Julio del año 2006, el (la) que suscribe NORMA ANGÉLICA FLORES LOZANO alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro B031459 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DRA. DIANE GENDRON LANIEL y cede los derechos del trabajo titulado: "PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS Y BIFENIL POLICOLORADOS COMO INDICADORES DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DE LA BALLENA AZUL (*Balaenoptera musculus*) DEL GOLFO DE CALIFORNIA" al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: nfloresl@ipn.mx

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

NORMA ANGÉLICA FLORES LOZANO

nombre y firma

DEDICATORIA

Para mi amigo y confidente que nunca me abandona.. gracias a ti soy lo que soy, gracias por darme la oportunidad de vivir esta hermosa experiencia...

Este trabajo también es por y para ustedes papitos, yo sé que no fue nada sencillo que su hija mayor se lanzara a esta aventura y sólo me queda agradecerles por todo su apoyo y comprensión. Estamos juntos en esto, mis triunfos son suyos. Los amo.. arriba y adelante.

Gracias Moni, por todo el apoyo que has sido para mis papás en estos años de ausencia pero gracias sobretodo por tu enorme amor que sobrepasa límites y aún a través del teléfono eres capaz de transmitirme tu dulzura y buen humor. Nunca cambies chiquita.

Te agradezco Raúl por abrirme las puertas de tu corazón.. porque gracias a tu compañía, apoyo, consejos y ejemplo que he recibido de ti han permitido que disfrute de los problemas y visualice todo como un reto. TQM.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi gratitud a todos aquellos que hicieron posible la realización del presente trabajo. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Programa Integral de Formación de Investigadores (PIFI) por el apoyo económico recibido durante mis estudios. Agradezco al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN) por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de crecer como estudiante.

Este trabajo no hubiera sido posible sin su valiosa ayuda Dra. Diana Gendron, por apoyarme en las buenas y malas, por su comprensión, respeto y sobre todo cariño demostrado. Gracias por darme libertad de decisión aunque no siempre haya sido la correcta. Los errores me permitieron crecer como persona y estudiante y eso sólo se lo debo a usted. Gracias infinitas.

Agradezco a mis sinodales:

Dr. Sergio Aguiñiga, por no abandonarme y estar siempre al tanto de mí, por sus consejos acertados, su ayuda y su buena amistad.

Dr. Vinicio Macías, sin su ayuda y la de Nancy, la parte más importante de este trabajo como es la parte analítica no hubiera sido posible, gracias por abrirme las puertas del IIO-UABC y tomar como tuyas las muestras de ballena azul.

Dr. Gustavo de la Cruz, los atinados consejos para la mejora del escrito ordenaron las ideas contenidas en mi cabeza, muchas gracias, siempre es bueno una crítica profunda y constructiva.

Dr. Evgueni Choumilin, sé que usted prefiere no ser mencionado pero este modo es mi manera de agradecerle por la hermosa clase de oceanografía química, la cual representó un acercamiento profundo al conocimiento que por primera vez tenía sobre el océano. La química no cabe duda es apasionante.

Dr. Norman Silverberg, por su apoyo y disposición en este momento tan importante como lo es la defensa de tesis.

Finalmente agradezco a todos mis compañeros del Laboratorio de Mamíferos Marinos: Christian, Raúl, Fabiola, Manolo, Geraldine, Mariana, Verónica, Melissa e Isabel. Con un apartado especial para Azucena y Marisol por apoyarme en el trabajo de foto-identificación y determinación de lípidos totales, muchas gracias. A mis buenos amigos del Laboratorio de Química por sus consejos y ayuda en los momentos más inoportunos: Fernando, Horalía y Francisco.

CONTENIDO

CONTENIDO	III
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABLAS	VI
NOMENCLATURA IUPAC	VII
ACRÓNIMOS	VII
GLOSARIO	VIII
RESÚMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Biología de la ballena azul	4
2.2. Contaminación de los organismos por pesticidas y PCBs: Historia.	5
2.3. Características químicas de los contaminantes	6
2.4. Estudios de contaminantes en mamíferos marinos.....	9
2.4.1. Distribución de los contaminantes en la grasa	11
2.4.2. Mecanismo de acumulación de contaminantes químicos.....	11
2.4.3. Transferencia de contaminantes de hembra a cría	12
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. OBJETIVOS	15
4.1. Objetivo General.....	15
4.2. Objetivos particulares	15
5. MÉTODOS	16
5.1. Obtención de biopsias	16

5.2. Selección de biopsias y peso	17
5.3. Análisis químico.....	18
5.3.1. Análisis de plaguicidas organoclorados y PCBs en las biopsias	18
5.3.2. Determinación del porcentaje lipídico en las biopsias	23
5.4. Análisis estadísticos	24
6. RESULTADOS	28
6.1. Control de calidad.....	28
6.1.1. Análisis de control interno.....	29
6.2. Concentración de plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados en las ballenas azules	30
6.2.1. Variación de plaguicidas organoclorados y PCBs de las ballenas azules.....	36
6.2.2. Historial de avistamiento.....	40
6.2.3. Variación de plaguicidas y PCBs entre sexos y grupos.....	42
6.2.4. Variación de plaguicidas organoclorados y PCBs con la edad.....	45
6.2.5. Variación de plaguicidas organoclorados y PCBs en la hembra y su cría.....	47
7. DISCUSIÓN.....	48
8. CONCLUSIONES.....	58
9. RECOMENDACIONES	59
BIBLIOGRAFÍA.....	60
ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de algunos compuestos orgánicos persistentes.....	8
Figura 2. Área de estudio y localización geográfica de las biopsias de ballenas azules del presente estudio.	17
Figura 3. Cromatograma de la mezcla con 16 congéneres de plaguicidas empleado como referencia para la identificación y cuantificación de los picos.....	28
Figura 4. Proyección de las variables activas de las ballenas azules del Golfo de California sobre un plano de factores 1x2.	37
Figura 5. Ordenación de los individuos de ballena azul en función de las variables activas (H= Hembra, M= Macho, C= Cría).....	38
Figura 6. Diagrama de árbol de las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California. (M= Macho, H= Hembra, H/L= Hembra lactante, C= Cría).....	39
Figura 7. Variación de concentración de Σ DDT (expresada en ng/g lipido) en hembras conocidas de ballena azul del Golfo de California.	46
Figura 8. Representación gráfica de las categorías de edad de la ballena azul del Golfo de California en el período de febrero a mayo del 2005.....	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rampa utilizada para el análisis cromatográfico de plaguicidas organoclorados y PCBs en grasa de ballena azul.....	21
Tabla 2. Comparación de las concentraciones promedio (expresadas en ng/g lípido) del material de referencia obtenidas en el IIO con respecto a la organización certificadora NIST.	30
Tabla 3. Concentración de plaguicidas organoclorados (ng/g lípido) en grasa de las ballenas azules del Golfo de California.....	31
Tabla 4. Concentración de PCBs (ng/g lípido) en grasa de las ballenas azules del Golfo de California.....	33
Tabla 5. Estadística descriptiva de los plaguicidas (con frecuencia porcentual en biopsias mayor al 50%) presentes en las ballenas azules del Golfo de California.	35
Tabla 6. Estadística descriptiva de grupos de contaminantes presentes en la grasa de las ballenas azules del Golfo de California.....	35
Tabla 7. Eigenvalores y porcentaje de variación total en los componentes del ACP.....	36
Tabla 8. Contribución de los compuestos organoclorados y PCB (variables activas) en grasa de las ballenas azules del Golfo de California.....	37
Tabla 9. Estadística descriptiva de las variables activas (expresadas en ng/g lípido) en las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California.	40
Tabla 10. Concentraciones promedio (expresado en ng/g lípido) obtenidas en la ballena foto-recapturada.....	40
Tabla 11. Historial de avistamientos de las ballenas azules del Golfo de California del presente estudio.	41
Tabla 12. Estadística descriptiva entre sexos (expresados en ng/g lípido) en las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California.....	42
Tabla 13. Estadística descriptiva entre grupos (expresados en ng/g lípido) en las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California.....	43
Tabla 14. Análisis de comparación en la concentración de contaminantes (expresadas en ng/g lípido) entre ballenas azules machos y hembras del grupo 1.....	44
Tabla 15. Análisis de comparación en la concentración de contaminantes (expresadas en ng/g lípido) entre ballenas azules machos y hembras del grupo 2.....	44
Tabla 16. Análisis de comparación en la concentración de contaminantes (expresados en ng/g lípido) entre ballenas azules hembras del grupo 1 y del grupo 2 de ambos sexos.....	45
Tabla 17. Coeficientes de correlación (concentración x edad mínima) de los diferentes modelos empleados en hembras conocidas de ballena azul.....	46
Tabla 18. Concentración de contaminantes (ng/g lípido) en biopsias de grasa de madre y cría de ballena azul.....	47
Tabla 19. Asignación de la categoría de edad obtenida mediante el análisis de la concentración de los plaguicidas organoclorados y PCBs en las ballenas azules del Golfo de California.	56
Tabla 20. Concentración de α -clordano (ng/g lípido) de las ballenas azules del Golfo de California (tomado de Valdez-Márquez, 2001).	71
Tabla 21. Análisis de medidas de tendencia central en los diferentes procedimientos de sustitución de valores no detectados (NDs).	71

NOMENCLATURA IUPAC

BHC (HCH): 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano (mezcla de isómeros).

BHT: butil – hidroxitolueno.

DDD (TDE): 1,1-dicloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano.

DDE: 1,1-dicloro-2,2-bis(p-diclorobifenil)etileno.

DDT: 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano.

TCMX: 2,4,5,6-tetracloro-m-xileno.

ACRÓNIMOS

ACP: Análisis de componentes principales.

CG - DCE: Cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones.

LOD: Limit of Detection (en español Límite de detección).

ND: No detectado.

NIST: National Institute of Standard & Technology (en español Instituto National de Estándares y Tecnología).

PCB: Bifenilo policlorado.

SRM: Standard Reference Material (en español Material de Referencia Certificado).

UV-Vis: Ultravioleta – visible.

GLOSARIO

ANALITO: Químico que puede ser detectado por algún método analítico.

ÁCIDO GRASO: Molécula formada por una larga cadena hidrocarbonada de tipo lineal y con un número par de átomos de carbono. Estas moléculas poseen una zona hidrófila debido a que el extremo de la cadena es un grupo carboxilo (-COOH) y una zona lipófila que se forma por la cadena hidrocarbonada que presenta grupos metileno (-CH₂) y grupos metilo (-CH₃) terminales.

CRÍA: Ballena recién nacida o con menos de 7 meses de edad que se encuentra acompañada por un adulto, la cual asumimos es su madre.

BALLENA ADULTA: Ballena foto-identificada con una edad mínima de 10 años de edad, edad a la que consideramos ha alcanzado la madurez sexual. La estimación de la edad de madurez sexual en las hembras se precisa entre 5 y 10 años (Lockyer, 1984), mientras que en los machos la edad de madurez sexual es mayor (Yochem & Leatherwood, 1985).

BALLENA JOVEN: Ballena foto-identificada como cría y que tiene menos de 10 años.

BALLENA LACTANTE: Ballena hembra acompañada por su cría y que se encuentra en el período de lactancia.

BIOACUMULACIÓN: Proceso por el cual se da un incremento de las concentraciones de los contaminantes en el organismo tanto del medio inerte como vía la cadena alimenticia. Tiene dos componentes, la bioconcentración, sólo inorgánica y la biomagnificación vía la cadena alimenticia debido a la alta afinidad

con los lípidos y principalmente por la propiedad biológica inerte del contaminante o sus metabolitos.

BIOCONCENTRACIÓN: Acumulación de los contaminantes en el organismo a partir del agua y por la ingestión de alimento llevándose a cabo un aumento de las concentraciones, siendo este último la principal vía para la captación de contaminantes en todos los organismos.

BIOMAGNIFICACIÓN: Incremento en las concentraciones de un contaminante aumentando conforme la cadena trófica debido a la bioconcentración acoplado a la lenta velocidad de excreción y metabolismo.

BLANCO: Muestra que proporciona una revisión de la calidad de los reactivos y solventes y reflejan cualquier contaminación del sistema. Un blanco es una muestra carente de los analitos a determinar pero que se procesa de la misma manera que una muestra objetivo.

COMPUESTO BIFENILO POLICLORADO: Molécula que contiene dos anillos bencénicos unidos con un número variable de átomos de cloro. La toxicidad de estos compuestos está asociado con la suma de cloros que posea en su estructura formando 209 isómeros de acuerdo al número y lugar de estas sustituciones.

CONTROL DE CALIDAD: Proceso llevado a cabo en el laboratorio analítico cuyo propósito esencial es producir resultados de alta calidad y confiabilidad, garantizar que el proceso de medición es exacto, confiable y adecuado para el propósito para el cual es aplicado.

CROMATOGRAFÍA: Método físico de separación de compuestos en la cual los componentes a separar se distribuyen en dos fases, una de las cuales constituye la fase estacionaria, de gran área superficial, y la otra es un fluido (fase móvil) que pasa a través o a lo largo de la fase estacionaria.

CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA: Método físico de separación en el cual los componentes a separar son colocados en una columna constituida con una fase estacionaria (sílica, alúmina, florisil, etc.) y se añade una fase móvil (solvente) que eluye los componentes de acuerdo a la polaridad del solvente.

CROMATOGRAFÍA DE GASES: Se utiliza para la separación de sustancias gaseosas pertenecientes a una sola muestra en diferentes tiempos. La fase móvil es un gas y la fase estacionaria puede ser un sólido o una película de líquido de alto punto de ebullición recubriendo un sólido inerte. Así la identificación y cuantificación de cada uno de los compuestos depende del tiempo en el que son eluidos.

EFICIENCIA DE EXTRACCIÓN: Usualmente denotado en porcentaje, proporciona información de la precisión y exactitud del método empleado en la cuantificación del analito. La eficiencia de extracción puede variar de acuerdo al analito, matriz y nivel de concentración (especialmente cuando los niveles son elevados o cercanos al límite mínimo de detección).

ESTÁNDAR PRIMARIO O MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADA: Muestra pre-homogeneizada con las concentraciones de cada contaminante certificadas que se analiza para evidenciar y comparar los resultados obtenidos con los de la organización certificadora.

ESTÁNDAR INTERNO: Sustancia suficientemente bien definida para ser usada en la calibración, control de calidad de mediciones técnicas o para asignar valores a otras sustancias.

ESTÁNDAR SURROGADO: Compuestos que no se esperan encontrar en las muestras y son añadidas al principio del análisis para medir las pérdidas en el laboratorio debido a los procedimientos llevados a cabo.

FASE ESTACIONARIA: Material inerte inmóvil en la columna cuya función principal es la de competir con la fase móvil por el analito y separar los componentes de la muestra.

FASE MÓVIL: Eluente (líquido o gas dependiendo de la clase de cromatografía que se emplee) que corre a lo largo de la columna arrastrando los analitos afines al solvente.

FOSFOLÍPIDOS: Moléculas que se caracterizan por presentar un ácido ortofosfórico en su zona polar. Son las moléculas más abundantes de la membrana citoplasmática.

FOTO-IDENTIFICACIÓN: Identificación de individuos por medio de fotografías. En ballena azul se usa la comparación de manchas del dorso. Cada individuo tiene un patrón de pigmentación único desde el nacimiento lo cual permite formar un catálogo de fotografías de cada individuo.

HIDROCARBURO: Compuesto que puede ser lineal o cíclico que se encuentra constituido únicamente por carbono e hidrógeno.

HIDROCARBURO HALOGENADO: Hidrocarburo que pueden estar constituidos con uno o más átomos de fósforo, cloro, bromo o yodo.

HIDRÓLISIS: Reacción de una sustancia con el agua que, por lo general, cambia el pH de la solución.

INDICADOR: Variable cuya presencia, ausencia o distribución está asociada a un factor o a una combinación de factores particularmente significativa o relevante.

LÍPIDO: Biomoléculas orgánicas formadas básicamente por carbono e hidrógeno y generalmente también oxígeno; pero en porcentajes mucho más bajos. Pueden

contener fósforo, nitrógeno y azufre. Es un grupo de sustancias muy heterogéneas que solo tienen en común dos características: son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos, como éter, cloroformo, benceno, etc.

LIPOFÍLICO: Que tiene afinidad por las grasas y gran solubilidad en los lípidos; posee la propiedad físico-química que favorece el equilibrio de partición o reparto de un soluto entre el agua y un disolvente orgánico inmiscible, a favor de éste; influye en la absorción y bioacumulación.

PLAGUICIDA: Cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destinan a controlar cualquier plaga incluyendo los vectores de enfermedades humanas y de animales, así como de especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran en la producción agropecuaria y forestal. Los problemas ambientales asociados con el uso de plaguicidas tienen que ver con su toxicidad, capacidad de degradación y tendencia a acumularse en los organismos.

PLAGUICIDA ORGANOCOLORADO: Hidrocarburos con alto contenido de átomos de cloro que conforman un grupo de plaguicidas artificiales desarrollados principalmente para controlar las poblaciones de insectos plaga. Como contaminantes tienden a circular a través de las cadenas tróficas y acumularse en los organismos.

RESÚMEN

El presente trabajo explora el potencial en la utilización de los contaminantes orgánicos persistentes como indicadores en la aproximación del sexo y madurez sexual de las ballenas azules del Golfo de California. Asimismo, se presenta el primer dato de transferencia de contaminantes de una hembra a su cría en misticetos. Se analizaron los niveles de contaminación en 28 biopsias de grasa de ballena azul foto-identificadas a lo largo del Golfo de California entre febrero a abril del 2005. La mayor parte de los plaguicidas y bifenilos policlorados (PCBs) analizados se detectaron en bajas concentraciones. No obstante, tres compuestos (4,4-DDT, 4,4-DDE y β -BHC) y los PCBs totales fueron críticos en la formación de dos grupos de ballenas azules abarcando el 75% de la población estudiada. Se caracterizaron a los grupos con base a los resultados del sexo y al historial de avistamientos de algunos individuos incluidos en el catálogo de identificación del CICIMAR. El primer grupo de ballenas con mayor concentración β -BHC ($p < 0.05$) se conformó por individuos adultos (machos y hembras) en comparación con el otro grupo conformado por jóvenes (machos y hembras). Dentro del grupo de adultos, los machos presentaron mayor concentración de Σ DDT y Σ PCB ($p < 0.05$) comparado con las hembras adultas. Estas diferencias entre adultos de diferente sexo se atribuyen a los procesos de transferencia de contaminantes por parte de las hembras a sus crías y los procesos de bioacumulación por parte de los machos. Finalmente, la concentración de los contaminantes encontrados en una hembra y en su cría permitió corroborar que esta especie sigue los patrones generales de transferencia de contaminantes reportados para otros mamíferos marinos.

ABSTRACT

ORGANOCHLORIDE PESTICIDES AND BIPHENYL POLYCHLORIDES AS INDICATORS OF THE POPULATION STRUCTURE OF THE BLUE WHALE (*Balaenoptera musculus*) IN THE GULF OF CALIFORNIA

This study points out the potential of using persistent organic pollutants as indicators to estimate the sex and sexual maturity of blue whales in the Gulf of California. It also presents the first data showing the transfer of contaminants from a female to its calf among wild baleen whales. Contamination levels were analyzed in 28 biopsies of the blubber from photo-identified blue whales sampled throughout the Gulf of California between February and April 2005. Most of the pesticides and PCBs analyzed occur in low concentrations. However, three compounds, (4,4-DDT, 4,4-DDE and β -BHC) as well as total PCBs, were found to be critical in defining 2 groups of animals embracing 75% of the population studied. The groups were characterized according to sex and the sighting history of some individuals within the CICIMAR identification catalog. The first group of whales consisted of adult males and females that showed higher concentrations of β -BHC ($p < 0.05$) than the other group made up by the young of both sexes. Within the group of adults, males displayed higher concentrations of Σ DDT and Σ PCB ($p < 0.05$) than the females. These differences are attributed to the process of bioaccumulation in males, while the females can transfer part of the contaminants to the calves. Finally, comparison of the level of contaminants found in one female and her calf has allowed us to confirm that this species follows the general patterns of contaminant transference reported for other marine mammals.

1. INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas organoclorados, compuestos creados para la eliminación de plagas en campos agrícolas, y los bifenil policlorados (PCBs) para aislantes en la industria eléctrica, fueron utilizados a gran escala a nivel mundial desde los años 40 hasta los 70 (Arias *et al.*, 1990). Para los plaguicidas organoclorados, la alta resistencia a la degradación en condiciones ambientales, la toxicidad hacia los insectos y su durabilidad en el sustrato tiempo después de su aplicación, fueron características que propiciaron su popularidad (Arias *et al.*, 1990). Asimismo, los PCBs fueron compuestos útiles a la industria por ser poco inflamables, conductores y con alta durabilidad en almacenamiento (Ross, 2006).

Sin embargo, al poco tiempo de ser utilizados a escalas industriales, comenzaron a ser detectados los efectos tóxicos en los organismos debido a la alta afinidad a las grasas lo cual provocaba una fácil acumulación en los tejidos. Desde entonces el conocimiento de los efectos tóxicos en los organismos y el efecto persistente de los compuestos en el medio ambiente propició la creación de un tratado internacional firmado por 140 países en el 2001. Dicho tratado promueve la erradicación total de doce compuestos principales que en conjunto son llamados “la docena sucia” (OMS, 1993). Nueve compuestos son plaguicidas (BHC, DDT, dieldrin, aldrin, endrin, clordano, heptacloro, mirex, toxafeno), un grupo de contaminantes industriales (PCBs) y 2 sub-productos de procesos industriales (dioxinas y furanos). A pesar de que dichos compuestos han sido prohibidos en la mayoría de los países desde los años 70, aún siguen siendo registrados en los organismos y en el ambiente debido a la gran estabilidad y persistencia que presentan estos químicos (OMS, 1993).

El estudio de los contaminantes químicos en la grasa de ballenas comenzó desde los años 60's (Aguilar, 1985), desde entonces hasta 1998 se han reportado las concentraciones de los contaminantes en 4400 individuos en 55 especies de cetáceos siendo los plaguicidas organoclorados y PCBs los compuestos más estudiados reportándose en el 70% de los casos (O'Shea & Aguilar, 2001).

Gran parte de estos trabajos se han enfocado al conocimiento del área de estudio utilizando a los cetáceos como indicadores de la salud ambiental (O'Shea & Aguilar, 2001). Asimismo, el conocimiento de ciertos contaminantes como indicadores de zonas agrícolas o zonas industriales ha permitido el esclarecimiento de zonas de alimentación diferentes para una misma población (Borrell *et al.*, 2006). La información proveniente de los análisis de contaminación en estos organismos muestra que hay una correlación clara entre la concentración encontrada y la edad del individuo debido a los procesos de acumulación (Aguilar & Borrell, 1988) y transferencia de estos contaminantes de madres a crías por medio de la gestación y la lactancia (Borrell & Desportes, 1995).

Es por ello, que en esta última década el interés por los procesos metabólicos incluyendo la acumulación de contaminantes, la transferencia de la hembra a la cría por la leche materna y la toxicidad en los individuos, ha ido en aumento, y refuerzan la necesidad de asociar las muestras con información específica de cada individuo como es la edad y sexo (Marine Mammal Commission, 1999). Actualmente no existen métodos que permiten determinar la edad de los cetáceos de vida libre, por lo que resulta interesante la propuesta del uso de estos compuestos como trazadores de edad (Tanabe *et al.*, 1987).

En este contexto, el estudio de foto-identificación de la ballena azul realizado en el CICIMAR desde 1993 contiene el historial de avistamiento de individuos ligado a un banco de tejido de grasa. Por lo que con esta base de datos es posible ahora verificar el uso de estos contaminantes como trazadores de edad de esta población.

Se han reportado concentraciones de plaguicidas organoclorados y PCBs en biopsias de algunas ballenas azules en el Atlántico Norte (Gauthier *et al.*, 1997) y en el Golfo de California (Valdez-Márquez, 2001). Ambos estudios mostraron la factibilidad de usar grasas de biopsias provenientes de animales silvestres en estudio comparativos. El presente trabajo evalúa los niveles de contaminación en plaguicidas organoclorados y PCBs en 28 muestras de grasa de ballenas azules que visitaron el Golfo de California en la temporada invernal del año 2005. La importancia en el estudio de esta población radica en el hecho de que el Golfo de California es reconocido como la única área de crianza conocida en el mundo, y donde se

encuentra constituida de machos adultos, hembras adultas, jóvenes y crías (Gendron, 2002), lo que permite analizar todas las clases de edad de la población. Además, esta especie se alimenta en un bajo nivel trófico, con los eufáusidos como presas principales (Gaskin, 1982) eliminándose, de este modo, la variabilidad existente en el grado de contaminación por los procesos de biomagnificación a través de la cadena alimenticia, como ocurre en otros cetáceos como los odontocetos.

A continuación, encontrarán los primeros resultados de categorización entre juveniles y adultos de ballena azul. El uso de los contaminantes más frecuentes en la grasa de individuos con historial de avistamientos, sirvió como referencia para la categorización de edad del resto de los individuos que comprende este estudio.

2. ANTECEDENTES

2.1. Biología de la ballena azul

La ballena azul (*Balaenoptera musculus*) pertenece al Orden Cetacea, suborden Mysticeti y a la familia Balaenopteridae. Su distribución es cosmopolita, encontrándose en todos los océanos del mundo. Los miembros de esta familia se caracterizan por poseer “barbas” en vez de dientes y realizar extensas migraciones anuales que se extienden de las altas latitudes hasta bajas latitudes durante los meses de verano e invierno respectivamente.

El conocimiento sobre el movimiento de la ballena azul del Pacífico Norte es general. El mayor número de avistamientos durante su migración hacia al norte se encuentra fuera de la costa central de California donde se le ha observado con frecuencia alimentarse, por lo que se reconoce este sitio como una zona de alimentación para esta especie durante los meses de verano (Calambokidis *et al.*, 1990; Fiedler *et al.*, 1998).

La ballena azul se encuentra en un bajo nivel trófico ya que es considerada macroplánctófaga alimentándose durante el verano de diversas especies de eufáusidos (*Euphausia pacifica*, *Thysanoessa spinifer*, *T. inermis*, *T. longipes*, *T. raschii* y *Nematoscelis magalops*) además de copépodos y anfípodos en el Pacífico Norte (Nemoto, 1957). Su consumo diario se calcula aproximadamente de 2 toneladas (Yochem & Leatherwood, 1985). Esta intensa alimentación se encuentra íntimamente relacionada a sus hábitos migratorios permitiendo de este modo almacenar gran cantidad de energía en su cuerpo en forma de grasa que será indispensable para el trayecto hacia el sur donde permanecerán por varios meses durante el invierno.

Uno de los sitios de distribución de la ballena azul durante el invierno se encuentra en el Golfo de California y es el único lugar del mundo en donde se han observado con gran frecuencia hembras con crías por lo que es considerado un importante lugar de crianza a nivel mundial (Gendron, 2002). La principal actividad

de las ballenas en esta área y temporada es la crianza (Gendron, 2002) pero también su actividad de alimentación sigue, siendo su principal presa el eufáusido *Nyctiphanes simplex* (Gendron, 1990; Del Ángel-Rodríguez, 1997).

Con relación a su reproducción, el 99% de las hembras tienen una sola cría cada tres años (Small, 1971). La cría se alimenta aproximadamente 7 meses de la leche de la hembra la cual se caracteriza por ser altamente concentrada en grasa con 35-50% grasa y 11-14% proteína (Lockyer, 1984). Durante este tiempo de lactancia, hembra y cría se observan cerca una de otra y al término de la lactancia (estimada en 7 meses) la cría se independiza y se separa de la hembra (Lockyer, 1984).

2.2. Contaminación de los organismos por pesticidas y PCBs: Historia.

A finales del siglo XVIII y el siglo XIX, las ballenas azules estuvieron sometidas a una intensa explotación que duraría hasta finales de los años 60 (Gendron, 2002). Estas ballenas por su enorme tamaño proporcionaban a las industrias balleneras toneladas de grasa, la que posteriormente era utilizada como aceite combustible para iluminación de casas, calles, etc. Paralelamente, el descubrimiento del queroseno a partir del carbón por Abraham Gesner en 1846, permitió que fuera abierta la primera industria de combustible vegetal en 1858 en Estados Unidos (Ross, 2006).

El aceite de ballena y el queroseno eran combustibles altamente inflamables y debido a que las casas en Estados Unidos durante esa época eran construidas con madera, los incendios eran frecuentes. Además, la población cada vez en aumento demandaba una producción mayor de combustible desarrollándose en los años 20 la industria eléctrica. Sin embargo, la creación y desarrollo exitoso de esta industria no hubiera sido posible sin la ayuda de un fluido aislante para los condensadores y transformadores utilizados para la producción eléctrica (Ross, 2006).

Fue hasta los años 30 cuando se descubrió que un grupo de compuestos artificiales tenían la capacidad de ser lubricantes inflamables y conductores eléctricos: los bifenilos policlorados (PCBs). Estas propiedades permitieron la

producción y utilización mundial a gran escala de este grupo de compuestos en la industria eléctrica y el subsiguiente desarrollo de la industria de los químicos (Safe, 1994). A partir de esto, fueron diseñados una gran variedad de compuestos para diferentes objetivos. Las propiedades plaguicidas descubiertas de los compuestos DDT y BHC permitió la autorización para su comercialización en Estados Unidos en el período inmediatamente posterior a la Segunda Guerra Mundial. Este uso también condujo al descubrimiento de otros compuestos plaguicidas derivados de la cloración de hidrocarburos como aldrín, dieldrín, clordano y heptacloro (Arias *et al.*, 1990) conociéndose a todo este grupo como plaguicidas organoclorados.

Al poco tiempo de la utilización de los PCBs y los plaguicidas organoclorados comenzaron a registrarse los primeros problemas de intoxicación con daños severos al organismo (UNEP, 1998). La lista de organismos afectados por estos contaminantes creció al paso del tiempo desarrollándose uno de los impactos ambientales a nivel mundial más importantes ya que aunque se conocía su alta toxicidad, resistencia y acumulación a través de la cadena trófica, la producción a grande escala continuó y mediante procesos dinámicos complejos los contaminantes utilizados y parte de los producidos llegaron al océano introduciéndose a los organismos marinos por cadenas tróficas (UNEP, 1998). Hoy, el océano es reconocido como depósito final de todos estos contaminantes (Shannon, 1999; Looser *et al.*, 2000).

2.3. Características químicas de los contaminantes

Los contaminantes orgánicos persistentes son compuestos orgánicos que, en cierta medida, resisten la degradación fotolítica, biológica y química. Otra característica es su semivolatilidad que les permite recorrer grandes distancias en la atmósfera antes de su deposición (UNEP, 1998).

Dentro del grupo de los plaguicidas organoclorados se encuentran cuatro subclasificaciones de acuerdo a su estructura química (Figura 1):

1) Aromáticos clorados. Incluyen el DDT y análogos: Dicofol, DDD, Bulan®, clorfenetol, clorobencilato, cloropropilato, etilan, metoxicloro y Prolan®.

2) Cicloalcanos clorados. Representados por el hexaclorociclohexano (BHC). Este químico consiste en 8 isómeros estéricos, incluyendo el isómero γ - lindano. Cada isómero tiene propiedades diferentes.

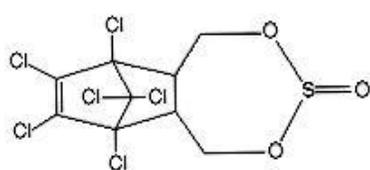
3) Ciclodiénicos clorados. Incluyen al aldrin, endrin, dieldrin, telodrin, heptacloro, isobenzam, clordano, endosulfán y mirex. En este grupo se encuentran los compuestos más tóxicos.

4) Terpenos clorados. Incluyen al toxafeno y compuestos relacionados. En este grupo se encuentra una mezcla compleja de químicos, muchos de los cuales estructuralmente son aún desconocidos.

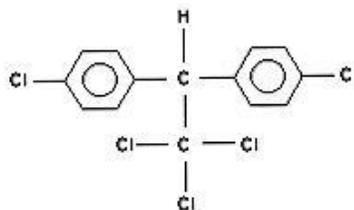
Los bifenilos policlorados (PCBs por sus siglas en inglés) conforman una familia que posee 209 congéneres (numerados secuencialmente del 1 al 209), diferenciados por el número y posición de los cloros.

Los plaguicidas organoclorados y PCBs son muy resistentes a la degradación debido al anillo aromático aunado a su enlace cloro-carbono que es muy estable frente a la hidrólisis; mientras más sustituciones de cloro y/o grupos funcionales, más elevada es su toxicidad y resistencia a la degradación biológica (UNEP, 1998).

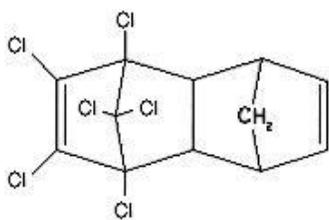
Debido a esta halogenación, su solubilidad en agua es muy baja y alta en lípidos, lo que les confiere la propiedad de pasar fácilmente a través de la estructura fosfolipídica de las membranas biológicas y acumularse en los depósitos de grasa (Aguilar & Borrell, 1991). Una lipofilia elevada da lugar a la bioconcentración, que junto con la alta resistencia a la degradación y la persistencia en el ambiente produce los fenómenos de biomagnificación a través de la cadena alimentaria (Krahn *et al.*, 2001).



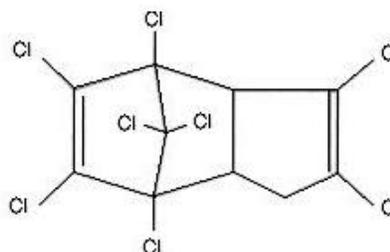
Endosulfán



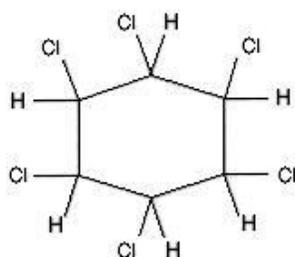
DDT



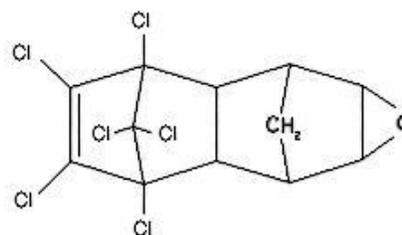
Heptacloro



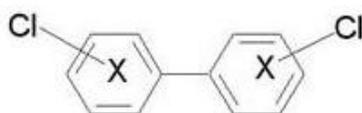
Clordano



**Lindano
(gamma isómero)**



Dieldrin



**Bifenil policlorado
(PBC)**

Figura 1. Estructura química de algunos compuestos orgánicos persistentes.

La excreción de los contaminantes orgánicos se lleva a cabo por conversiones metabólicas hacia formas más polares. Sin embargo, algunos contaminantes orgánicos pueden convertirse en metabolitos más persistentes que el compuesto primario, como ocurre en la conversión metabólica del DDT a DDE (UNEP, 1998).

Debido a ello, tienden a acumularse en los depósitos adiposos de animales especialmente en aquellos organismos que poseen un bajo metabolismo y excreción hacia estos contaminantes, como en los mamíferos marinos (Hayteas & Duffield, 2000; Krahn *et al.*, 2001).

2.4. Estudios de contaminantes en mamíferos marinos

La presencia de plaguicidas organoclorados y PCBs en la grasa de diferentes especies de cetáceos y otros mamíferos marinos ha sido documentada en varias partes del mundo desde hace 30 años (Holden & Marsden, 1967; O'Shea *et al.*, 1980; Cubero-Pardo *et al.*, 1999). Los reportes que se tienen actualmente sobre contaminantes en mamíferos marinos de vida libre se enfocan principalmente a pinnípedos y en un segundo plano, a cetáceos. Esto se debe principalmente a la dificultad para obtener biopsias de cetáceos y por lo tanto, la información que se tiene acerca de ellos es escasa. Se ha observado una clara acumulación de estos contaminantes en los tejidos tanto en cetáceos como en pinnípedos, siendo los organismos de nivel trófico más alto los que poseen las mayores concentraciones (Hayteas & Duffield, 2000; Berrow *et al.*, 2002; Debier *et al.*, 2003).

La vía de entrada de los contaminantes químicos al organismo acuático puede darse directamente del agua a través del tejido epitelial o branquias y por alimentación, almacenándose en él a un nivel que excede las concentraciones ambientales, llamándose este proceso bioconcentración. El incremento de los contaminantes con cada nivel de la cadena trófica se conoce como biomagnificación, mientras la bioacumulación es el nombre general que recibe todo este proceso que se lleva a cabo (bioconcentración + biomagnificación) (Arias *et al.*, 1990; Gobas *et al.*, 1999).

La degradación de los contaminantes en el organismo depende del tipo y la concentración del compuesto acumulado. De igual forma, el metabolismo y la excreción son más rápidos para los bifenilos menos clorados que para los más clorados (UNEP, 1998). No obstante, existe otro factor que influye en la degradación

y acumulación de los contaminantes químicos y éste es la capacidad excretora de cada especie. Al respecto, se ha observado que los cetáceos poseen una menor capacidad para metabolizar los compuestos aromáticos clorados comparados con pinnípedos y otros mamíferos que se alimentan de peces como los osos polares (Cubero-Pardo *et al.*, 1999). Debido a esto, se cree que los cetáceos son altamente susceptibles a los efectos tóxicos de los contaminantes aunque el impacto de éstos no se conoce todavía. Entre los efectos adversos que se atribuyen a altas concentraciones de los compuestos organoclorados en los mamíferos marinos se encuentran los fallos reproductivos (O'Shea & Brownell, 1994) y la disminución del sistema inmune. Relacionado con esta última, se asocia la adquisición de enfermedades infecciosas, lesiones de las glándulas adrenales y otros órganos, cánceres y alteraciones en el crecimiento del esqueleto y desarrollo ontogénico así como aumento en lesiones del sistema esquelético (Béland *et al.*, 1993; Aguilar *et al.*, 2002).

En un estudio comparativo entre cuatro rorcuales *Balaenoptera acutorostrata*, *B. physalus*, *B. musculus* y *Megaptera novaeangliae* provenientes del Golfo de San Lorenzo, Canadá, se observaron que las mayores concentraciones de DDT se encontraban en la grasa de ballena azul (Gauthier *et al.*, 1997a). Estos autores concluyen que las altas concentraciones de DDT en esta especie pueden deberse (1) a que tiene menos capacidad para metabolizar el DDT a DDE, o bien (2) a su alimentación de zooplancton, los cuales poseen mayores proporciones de DDT/DDE que los peces.

Otro factor que afecta los niveles de concentración encontrados en los cetáceos y organismos en general, es la zona geográfica en la cual se distribuyen. Son pocos los trabajos a este respecto en cetáceos. Sin embargo se observa que los mamíferos marinos que se distribuyen en la franja templada del hemisferio norte (particularmente aquellas especies que se alimentan de peces) exhiben las mayores cargas de DDT y PCB lo cual se encuentra relacionado a la producción extensiva y uso de organoclorados de los países industrializados en esas partes del mundo (Aguilar *et al.*, 2002).

2.4.1. Distribución de los contaminantes en la grasa

El tejido hipodérmico que cubre el cuerpo de los mamíferos, conocido como grasa está compuesto de varias capas o estratos que cumplen con diferentes funciones y en él se encuentran constituyentes bioquímicamente diferentes. De acuerdo con los estudios realizados por Aguilar & Borrell (1991), la grasa de misticeto está compuesto de dos estratos principales donde la mayor cantidad de contaminantes se concentran en el estrato externo que en el interno. Sin embargo, en estudios posteriores realizados por Gauthier *et al.*, (1997b) en *B. musculus* y *B. acutorostrata* varadas, no se observaron diferencias significativas en la concentración de los contaminantes en los diferentes estratos de grasa ni en los diferentes lugares de muestreo a lo largo de estas ballenas. Se concluyó finalmente que los contaminantes se redistribuyen mediante rápida movilización hasta llegar a un punto de equilibrio.

2.4.2. Mecanismo de acumulación de contaminantes químicos

Son numerosos los estudios referentes a acumulación de plaguicidas organoclorados y PCBs en cetáceos (Béland *et al.*, 1993; Gauthier *et al.*, 1997a; Cubero-Pardo *et al.*, 1999; Hayteas & Duffield, 2000; Berrow *et al.*, 2002; Evans *et al.*, 2004). Por definición, para que un compuesto pueda ser acumulativo en principio debe exceder las capacidades del organismo para excretarlo. En esta situación, se espera que las concentraciones en los tejidos incrementen progresivamente con la edad. Estos patrones de acumulación han sido observados tanto en mamíferos terrestres como marinos observándose que la edad y sexo son fuentes importantes de variación para las concentraciones de los contaminantes químicos (Aguilar *et al.*, 1999).

En este contexto, el patrón de acumulación en los machos es el aumento gradual de contaminantes a lo largo de su vida. De este modo, machos adultos exhiben mayores concentraciones que los jóvenes (O'Shea *et al.*, 1980; Krahn *et al.*,

2001; Valdez-Márquez, 2001; Debier *et al.*, 2003; Sφrmo *et al.*, 2003; Evans *et al.*, 2004).

De manera contrastante, aunque en las hembras se lleva a cabo el mismo proceso de acumulación que en machos, las hembras adultas en promedio se encuentran menos contaminadas que los machos. Esta diferencia entre machos y hembras adultas se atribuye a la transferencia de contaminantes de la hembra a su cría durante la gestación y la lactancia (Tanabe *et al.*, 1987; Debier *et al.*, 2003; Sφrmo *et al.*, 2003).

De este modo, hembras jóvenes exhiben niveles de concentración similares a los machos jóvenes, cuyos niveles en ambos casos son mayores que las reportadas para las hembras adultas (Aguilar & Borrell, 1988).

2.4.3. Transferencia de contaminantes de hembra a cría

Los estudios realizados sobre el mecanismo de transferencia de contaminantes que se da durante la lactancia de hembra a la cría, se han realizado principalmente en pinnípedos, debido a la facilidad para la obtención de diversas muestras (sangre, leche materna, biopsias), así como al fácil seguimiento de observación que se puede efectuar desde tierra y por colonia, lo que origina un mayor conocimiento en el historial de los individuos.

Estudios enfocados a la foca gris (*Halichoerus grypus*) concluyen que el mecanismo de transferencia de los contaminantes de hembras a crías se da principalmente a través de la leche materna (Addison & Brodie, 1977 y 1987; Lydersen & Kovacs, 1999; Debier *et al.*, 2003; Sφrmo *et al.*, 2003). Este fenómeno permite a las hembras una parcial detoxificación, siendo en su primer parto donde se da la mayor transferencia de organoclorados a la cría (Beckman *et al.*, 1999). Después de esto, las concentraciones en la hembra permanecen estables o es posible que declinen con la edad conforme aumentan los estados de lactancia (Connolly & Glaser, 2002).

La leche de los pinnípedos se caracteriza por ser rica en lípidos, la cual sirve como un medio altamente eficiente para la transferencia de contaminantes, posee del 30-60% de grasas, y se excreta aproximadamente 15% de los PCBs de la madre durante los primeros 18 días de lactancia (Debier *et al.*, 2003). En los cetáceos, particularmente en misticetos, la grasa es un depósito importante de reserva de energía encontrándose cantidades mayores de lípidos (del 30-80%) (Aguilar & Borrell, 1991). Cockcroft *et al.* (1989) calculó en delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) una transferencia alrededor del 80% al final del período de lactancia el cual dura aproximadamente 1.5 años (tomado en Aguilar & Borrell, 1994). Por otra parte, Aguilar & Borrell (1994) reportan para la ballena de aleta (*Balaenoptera musculus*) una transferencia total (gestación + lactancia de 7 meses) de 9-27% de DDT y 3-14% de PCB a las crías. Dichos autores concluyen que el tiempo de lactancia es un factor determinante para la transferencia de los contaminantes.

De este modo, las concentraciones de los contaminantes encontrados dependerán del tipo de compuesto y la especie afectada siendo la edad, sexo, estatus reproductivo y localización geográfica, factores que afectan directamente los niveles de concentración por lo que es importante tener la mayor información disponible sobre los individuos estudiados.

En contraste, contar con información sobre el historial de vida de los individuos, el sexo y los niveles de concentración podrían, en conjunto, ser utilizados como indicadores del estado reproductivo (joven o adulto) y de este modo, describir de mejor manera la estructura de una población.

3. JUSTIFICACIÓN

El conocimiento de los niveles de contaminación en los mamíferos marinos así como los procesos que provocan la acumulación en sus tejidos es poco conocido. Los trabajos en este tema a nivel mundial en cetáceos se reducen a algunos odontocetos debido a sus hábitos más costeros y su tendencia en formar grupos sociales grandes. En este contexto, los hábitos migratorios así como las agregaciones menos frecuentes de los misticetos han impedido su estudio en este tema encontrándose que la mayoría de los misticetos analizados provienen de ballenas cazadas o varadas y en las cuales el tiempo *post-mortem* influye grandemente en los niveles de contaminación.

De los pocos trabajos publicados para la ballena azul en individuos vivos se encuentra el realizado por Gauthier *et al.* (1997a) en 6 ballenas azules del Atlántico Norte, así como el realizado por Valdez-Márquez (2001) en 15 ballenas azules del Golfo de California siendo el único reporte publicado hasta momento para esta región de México.

El presente trabajo, representa la mayor muestra a nivel mundial de una población de ballena azul estudiada hasta ahora y cuyas muestras han sido obtenidas de individuos vivos que se han sexado y foto-identificado. Por otra parte es el primer trabajo en reportar los niveles de contaminación en una hembra conocida y su cría en esta especie y en misticetos en general. Por lo tanto, permitirá describir de manera general los procesos de bioacumulación en machos y la transferencia de hembra a cría en misticetos vivos y formará parte importante de los pocos estudios de contaminación realizados en organismos marinos del Golfo de California.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Caracterizar a las ballenas azules del Golfo de California en categorías de edad (jóven o adulto).

4.2. Objetivos particulares

1. Determinar las concentraciones de plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados presentes en 28 biopsias de ballena azul.
2. Comparar las concentraciones de contaminantes con la edad de los individuos conocidos mediante el historial de avistamiento.
3. Comparar tipos y niveles de contaminantes entre sexos y grupos de edad (cría, joven y adulto)
4. Comparar tipos y niveles de contaminantes entre la hembra lactante y su cría.

5. MÉTODOS

5.1. Obtención de biopsias

Las biopsias utilizadas en el presente trabajo fueron obtenidas a lo largo del Golfo de California durante salidas de campo realizadas de febrero a mayo del 2005 (Figura 2, anexo I). Las ballenas fueron foto-identificadas antes de que se tomara la biopsia. Para extraer el tejido subcutáneo se utilizaron puntas de acero inoxidable de 7 mm de diámetro y 40 mm de largo, con barbas dirigidas hacia dentro y lanzado con una flecha diseñada para tal fin mediante una ballesta a una distancia de 10 - 20 m de la ballena (Gendron, 2002). Inmediatamente después de su obtención se extrajeron las muestras de piel y grasa y se colocaron en papel aluminio previamente lavado con acetona y hexano dentro de viales criogénicos para congelarse directamente en nitrógeno líquido. Una vez en tierra, todas las biopsias fueron mantenidas a -40 C° hasta su procesamiento.

El historial de avistamientos de cada ballena azul obtenido mediante la técnica de foto-identificación, consiste en comparar la pigmentación única de cada ballena entre si. Este monitoreo anual de individuos mediante fotografías conforma un catálogo de aproximadamente 450 individuos de ballena azul y se ha estado realizando desde 1993 en el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). La determinación del sexo se lleva a cabo en todas las biopsias que se obtienen cada año y dichos resultados se anexan a la base de datos del historial de avistamiento de cada ballena. Este análisis se realiza a partir del tejido de piel proveniente de cada biopsia por duplicado mediante análisis genético realizado por el Dr. Luis Enriquez Paredes del Laboratorio de Ecología Molecular de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Para cada muestra se incluyeron, además de los controles negativos de extracción y de amplificación, un par de controles positivos con animales de sexo conocido. El método empleado para la identificación del sexo fue el propuesto por Bérubé & Palsbøll (1996) por medio de amplificaciones sobre la secuencia específica al cromosoma Y.

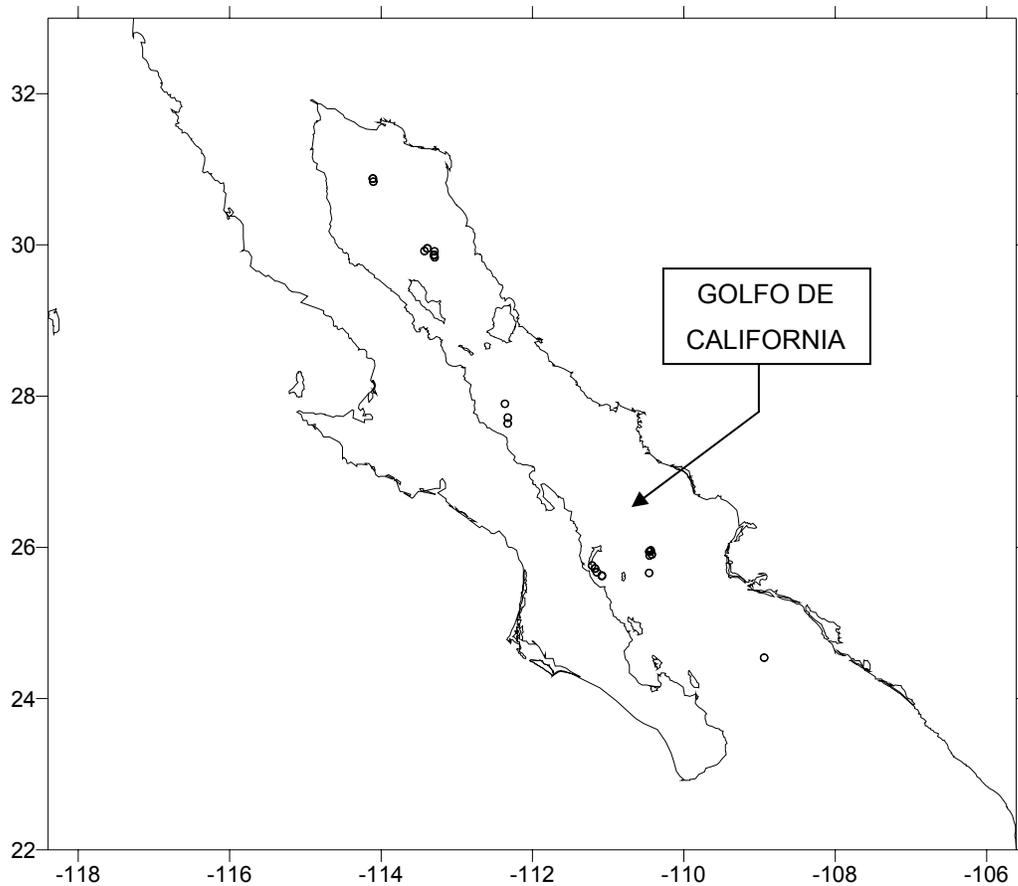


Figura 2. Área de estudio y localización geográfica de las biopsias de ballenas azules del presente estudio.

5.2. Selección de biopsias y peso

Se eligieron un total de 28 biopsias de ballena azul las cuales fueron recolectadas en el año 2005. El criterio principal para su selección fue utilizar únicamente aquellas biopsias, que a simple vista, contaran con suficiente cantidad de tejido adiposo (aproximadamente 0.2 g).

Para el manejo de dichas biopsias se siguieron procedimientos estandarizados como la utilización de guantes y bisturís esterilizados. Todo el material de vidrio fue lavado con jabón micro al 5%, mezcla crómica y agua destilada y fueron enjuagados con hexano y secados antes de la adición de cada muestra. Las biopsias se cortaron sobre papel aluminio que fue colocado sobre un bloque de hielo

para evitar la descongelación de las muestras durante su manejo. Los cortes se realizaron de manera longitudinal únicamente del tejido adiposo sin piel. El peso requerido para el análisis fue 0.2 - 0.3 g de grasa por lo que las biopsias fueron cortadas a este peso aproximado. Una vez realizado el corte fueron colocadas en viales de vidrio para ser pesadas en una balanza analítica (± 0.001 g) y corroborar el peso requerido. Las muestras etiquetadas se mantuvieron refrigeradas en una hielera durante su traslado al Laboratorio de plaguicidas en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO), Ensenada, B. C. para su análisis.

5.3. Análisis químico

5.3.1. Análisis de plaguicidas organoclorados y PCBs en las biopsias

La extracción y cuantificación de los plaguicidas organoclorados y PCBs se llevaron a cabo en el Laboratorio de plaguicidas en el IIO de la UABC en la ciudad de Ensenada, Baja California.

Para el control de calidad durante el proceso se adquirió en el National Institute of Standards & Technology (NIST) material de referencia certificado SRM-1945 proveniente de grasa de ballena piloto cuyos niveles de contaminación ya han sido cuantificados y puede ser utilizada como estándar de referencia primario para conocer los porcentajes de recuperación de cada compuesto, y de este modo, conocer la eficiencia de extracción del método empleado (Schantz *et al.*, 1993; Schantz *et al.*, 1995). El control de calidad llevado a cabo por el laboratorio se realizó mediante el análisis de un blanco, el estándar de referencia SRM-1945 y 4 muestras en cada corrida. Después de 5 corridas analizadas se inyectaron mezclas conocidas de plaguicidas organoclorados y PCBs para confirmar cambios en los tiempos de retención, asimismo, se analizó el solvente utilizado por el equipo cromatográfico para descartar cualquier contaminación en el sistema.

La cuantificación de los analitos se realizó con el método del estándar interno. Para determinar el porcentaje de recuperación se adicionó a cada muestra 100 μ L del surrogado 2,4,5,6-Tetracloro-m-xileno (TCMX) y PCB 209 con concentración de

200 ng/ml antes de efectuarse la extracción lipídica con el fin de tener un seguimiento de pérdidas de contaminantes durante el proceso. Para conocer la recuperación de cada contaminante se adicionó a cada muestra antes de ser inyectada en el equipo cromatográfico 10 µL de una mezcla de estándares internos de PCB 30 y PCB 205 quedando una concentración final de 100 ng/ml.

La técnica para el análisis de residuos de plaguicidas organoclorados y PCBs en grasa se fundamenta en la obtención de lípidos totales por medio del calentamiento del tejido graso con solventes adecuados. El procedimiento completo consta de los siguientes pasos: a) extracción de lípidos totales y primera concentración; b) adición del ácido; c) cromatografía en columna y concentración; d) concentración final e inyección en el cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones (CG-DCE); e) identificación y curva de calibración; y f) cuantificación de los compuestos. El procedimiento empleado se apoyó en el trabajo de Zeng & Vista (1997).

a) Extracción de lípidos totales y primera concentración.

Para la extracción de los compuestos, se empleó la extracción con Soxhlet. La biopsia fue colocada en el dedal y cubierta con fibra de vidrio adicionándose el estándar surrogado (TCMX y PCB 209). Asimismo, fueron colocados 100 ml de diclorometano en el matraz y 50 ml en la corneta. A cada matraz se le colocaron dos bolitas de alambre de cobre aproximadamente de un centímetro de diámetro previamente activado para eliminar interferencias de los sulfuros provenientes de la muestra. El tiempo total de la extracción fue de 12 h llevándose a cabo un reflujo cada 7 min. Una vez terminado este tiempo los matraces se conectaron a columnas Snyder y se concentró el extracto a ~ 1 ml mediante baño maría a 55 °C.

b) Adición del ácido

Esta etapa se ajustó a las condiciones del laboratorio añadiendo de 2 - 4 gotas de H₂SO₄ concentrado al extracto lipídico para eliminar la matriz orgánica compuesta

de lípidos y proteínas. Posteriormente, se agitó vigorosamente y se dejó en reposo 10 min para permitir que la hidrólisis fuera completa. Los contaminantes fueron separados de la matriz hidrolizada por centrifugación (15 min a 3000 rpm). El sobrenadante fue separado y se concentró hasta 1 ml con atmósfera de nitrógeno para posteriormente ser colocado en la columna cromatográfica.

c) Cromatografía en columna y concentración.

Se utilizaron columnas de vidrio calibradas (de 30 cm de longitud x 1 cm de diámetro) empacadas en húmedo con 12 cm de sílica activada al 3% en la parte inferior de la columna y 6 cm de alúmina activada al 3% en la parte superior como fase estacionaria y hexano como fase móvil. Para obtener la primera fracción se eluyó con 15 ml de hexano y la segunda fracción se obtuvo con 40 ml de hexano:diclorometano (70:30) en cuyo eluato se encuentran todos los plaguicidas y PCBs. Las fracciones fueron concentradas casi a sequedad por medio de un rotaevaporador a una presión de 0.04 MPa (~30 cmHg) en baño de agua a 60°C.

d) Concentración final e inyección en el CG-DCE.

Los matraces de los eluatos se lavaron con 8 ml hexano concentrándose a 0.5 ml con atmósfera de nitrógeno. Se realizaron dos lavados más con 2 ml de hexano concentrándose nuevamente hasta 0.5 ml. Este volumen fue colocado en un vial cromatográfico de 1 ml para posteriormente concentrarlo a sequedad. Las muestras fueron reconstituidas con 250 µl de hexano y se añadió 10 µl del estándar interno (PCB 30 y PCB 205) seguido de 5 minutos de agitación vigorosa utilizando un mezclador vortex.

Para realizar la cuantificación de los plaguicidas organoclorados y PCBs, se inyectó una alícuota de 0.2 µl al cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890 Plus (temperatura del inyector de 280 °C) con detector de captura de electrones (temperatura del detector de 280 °C). Se utilizó una columna capilar de 60 metros de longitud con 0.25 mm de diámetro interno (Mod. J&W DB-XLB), la temperatura inicial de la columna fue de 80 °C y la temperatura final fue de 300 °C. Como gas

acarreador se usó nitrógeno grado industrial con un flujo de 30 ml/min. El tiempo total de la corrida fue de 100 min (Tabla 1).

Tabla 1. Rampa utilizada para el análisis cromatográfico de plaguicidas organoclorados y PCBs en grasa de ballena azul.

Rampa del horno	°C/min	°C siguiente	Pausa isotérmica	Tiempo de la corrida
Inicial	-	80	1'	1'
Rampa 1	15.00	150	0'	5'67"
Rampa 2	2.00	250	0'	55'67"
Rampa 3	5.00	300	25'	90'67"
Post run	-	80	10'	100'67"

e) Identificación y curva de calibración

Los PCBs y plaguicidas fueron identificados por medio de mezclas de compuestos individuales con concentraciones de 200 ng/ml. Las concentraciones de los PCBs y plaguicidas en las muestras se determinaron por medio de curvas de calibración de estándares de referencia provenientes del laboratorio ULTRASTANDARD™. Algunos ejemplos se muestran en el anexo II.

La curva de calibración se realizó utilizando soluciones preparadas de los estándares con concentraciones de 200, 100, 50, 25 y 10 ng/ml para los PCBs y de 200, 100, 50, 25 y 12.5 ng/ml para los plaguicidas. Finalmente, se añadió 10 ng/ml del estándar interno (PCB 30 y PCB 205) previo a su inyección en el cromatógrafo.

Los cromatogramas fueron obtenidos digitalmente por el software integrado en el CG-DCE arrojando información de tiempos de retención, áreas bajo la curva de cada compuesto y las áreas del estándar interno. A partir de la información de concentración conocida y áreas bajo la curva de cada compuesto se graficaron las áreas relativas de cada compuesto ($x = [\text{área estándar} / \text{área del estándar interno}]$) y las concentraciones relativas de cada compuesto ($y = [\text{concentración del estándar} / \text{concentración del estándar interno}]$). Con la curva de calibración se buscó la línea de tendencia que mejor explicara el comportamiento observado para obtener las constantes del intercepto y la pendiente.

f) Cuantificación de los compuestos.

La concentración de cada compuesto se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$C = A * \left[\frac{A_a}{A_{surr}} \right]^B * I_{surr} \left[\frac{V_{final}}{Sw} \right]$$

Donde:

C = Concentración del analito de interés.

A = Constante (intercepto) obtenida en la curva de calibración.

B = Constante (pendiente) obtenida en la curva de calibración.

A_a = Área del analito de interés.

A_{surr} = Área del surrogado (TCMX o PCB 209 adicionado a la muestra previo a su procesamiento).

I_{surr} = Concentración del surrogado agregado a la muestra (TCMX o PCB 209).

V_{final} = Volumen final de la muestra.

Sw = Peso seco de la muestra.

Las concentraciones finales obtenidas fueron reportadas en ng/g de tejido.

El porcentaje de recuperación para cada compuesto se calculó a partir de datos obtenidos del cromatograma de un estándar preparado con concentraciones conocidas del surrogado (TCMX y PCB 209) y estándar interno (PCB 30 y PCB 205) y se calculó de acuerdo a la fórmula:

$$PR = \left(\frac{\left[\frac{A_{SM}}{A_{IM}} \right]}{\left[\frac{A_{SE}}{A_{IE}} \right]} \right) * 100$$

Donde:

PR = Porcentaje de recuperación del analito de interés.

A_{SM} = Área del surrogado en la muestra.

A_{IM} = Área del estándar interno en la muestra.

A_{SE} = Área del surrogado en el estándar preparado.

A_{IE} = Área del estándar interno en el estándar preparado.

5.3.2. Determinación del porcentaje lipídico en las biopsias

La cuantificación de los lípidos de cada muestra se determinó en el laboratorio de microalgas del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) en La Paz, Baja California Sur.

El proceso completo constó de las siguientes fases: a) elaboración de la curva de calibración; b) extracción de los lípidos totales en las muestras; y c) cuantificación de los lípidos totales en las muestras.

a) Elaboración de la curva de calibración.

Los lípidos totales se extrajeron por triplicado mediante el método de Folch & Stanley (1956, modificado) en un peso aproximado de 0.04 g de grasa de ballena azul. El extracto final obtenido se colocó en un vial a peso constante y se llevó a sequedad con nitrógeno líquido. A partir del peso conocido de los lípidos totales se realizaron diluciones a 20, 50, 100, 150 y 200 $\mu\text{g/ml}$. Para la cuantificación de los lípidos las diluciones fueron preparadas mediante el método de calcinación propuesto por Marsh & Weinstein (1966). Una vez calcinadas, las diluciones fueron colocadas en celdas de cuarzo completamente limpias y secas para ser inmediatamente leídas en el espectrofotómetro UV-Vis a 375 nm. La curva de calibración se realizó a partir de los datos obtenidos de absorbancia y las concentraciones conocidas para obtener el valor de la pendiente del modelo lineal obtenido. El error obtenido de acuerdo a las réplicas fue de $\pm 0.7\%$ lípido.

b) Extracción de lípidos totales (Folch & Stanley, 1956, modificado)

Se utilizó aproximadamente 0.25 g de grasa de cada biopsia de ballena azul. A éstas, se añadieron 3.15 ml de cloroformo:metanol:agua (2:1:0.15), 10 µl de butilhidroxitolueno (BHT) al 1% en cloroformo como agente antioxidante y 10 µl del estándar interno (1 mg/ml en cloroformo). La extracción de los lípidos se realizó mediante sonicación por 5 minutos para después dejarse en reposo por 15 minutos. Pasado el tiempo se agregaron 0.6 ml de H₂O y se agitó en vortex durante 30 seg. Nuevamente se dejó en reposo para permitir la separación de la fase acuosa y lipídica. La fase acuosa (sobrenadante) fue desechada. La fase lipídica fue lavada 2 veces añadiendo 1.5 ml de cloroformo:metanol:agua (2:1:0.15) evitando mezclar la fase acuosa-lipídica que se forma. Una vez realizados los lavados se retiró completamente el sobrenadante y a la fase lipídica se le añadió 0.65 µl de cloroformo:metanol (2:1). Finalmente, se filtró en pequeñas columnas de vidrio (pipetas pasteur) empacadas con 2 cm de sulfato de sodio para separar la porción no lipídica. El filtrado se colocó en viales a peso constante y se evaporaron a sequedad.

c) Cuantificación de lípidos totales (Marsh & Weinstein, 1966)

A los lípidos totales extraídos y secos, se les añadió 2 ml de H₂SO₄ concentrado, y los viales fueron sellados perfectamente con papel aluminio y tapón de rosca para su posterior calentamiento a 200 ± 2°C en la estufa durante 15 min. Posteriormente se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 5 min. Una vez pasado este tiempo los viales fueron colocados en un baño de agua con hielo durante 5 min para añadir después 3 ml de agua destilada y finalmente mezclarlos en vortex hasta su perfecta emulsificación. Los extractos fueron leídos en el espectrofotómetro a 375 nm calibrando el equipo con un blanco que fue tratado de igual manera que las muestras.

5.4. Análisis estadísticos

Para estimar la edad mínima de los individuos conocidos se tomó como edad inicial mínima de 1 año a un individuo fotografiado por primera vez y de 5 años si la

hembra fotografiada iba acompañada de una cría. En los individuos no conocidos se ignora si éstos son individuos viejos o jóvenes pero se sabe que no son cría.

Para fines estadísticos los isómeros de BHC y el plaguicida DDT y sus metabolitos fueron considerados de manera independiente a la sumatoria de los plaguicidas (Σ Plaguicidas). La Σ BHC fue calculada como la sumatoria de las concentraciones de los isómeros α -BHC, β -BHC, γ -BHC y δ -BHC. La Σ DDT fue calculada como la sumatoria de las concentraciones de 4,4-DDT, 4,2-DDT, 4,4-DDE, 4,2-DDE y 4,4-DDD. La Σ Plaguicidas se calculó a partir de la sumatoria de los 9 plaguicidas restantes (heptacloro, heptacloro epóxido, endosulfán II, endosulfán sulfato, aldrin, dieldrin, endrin, endrin aldehído, metoxicloro). El plaguicida endosulfán I no se consideró para los cálculos debido a la coelución con el PCB 99. Finalmente, la Σ PCB se calculó a partir de la sumatoria de 40 PCBs analizados (PCB-18, 28, 37, 44, 49, 52, 66, 70, 74, 77, 81, 87, 101, 105, 110, 114, 118, 119, 123, 126, 128, 138, 149, 151, 153, 156, 157, 158, 167, 169, 168, 170, 177, 180, 183, 187, 189, 194, 202, 206). El PCB 99 no fue considerado para dicha sumatoria debido a que coeluye con el endosulfán I.

Previo al análisis estadístico las concentraciones “no detectables” (ND) se reemplazaron por valores obtenidos por medio de la sustitución del “Límite de detección” (LOD)/#ND. En el anexo III se detallan los métodos para sustitución de ND que estuvieron a prueba estadísticamente. Esta sustitución de ND fue realizado solamente en los plaguicidas y PCBs que se encontraron presentes en más del 50% de las muestras para evitar el sesgo producido por la presencia de un mayor porcentaje de datos sustituidos de ND (Gleit, 1985; Helsel, 1990).

La comparación entre ballenas con diferente condición corporal (machos, hembras, hembras lactantes y cría) se llevó a cabo mediante la estandarización de las concentraciones de los contaminantes con base a los lípidos totales de cada muestra, dividiendo cada una de las concentraciones de los plaguicidas organoclorados, PCBs y ND calculados (expresados en ng/g tejido) entre la fracción lipídica (%lípidos / 100) de cada individuo de acuerdo a Krahn *et al.* (2003). La unidad de concentración final se expresó en ng/g lípido.

Para organizar la matriz de datos y encontrar las variables que pudieran separar los individuos en grupos de edades y sexo de ballenas azules se tomaron los plaguicidas de mayor frecuencia (más del 50% de las biopsias) y la suma de los PCBs (debido a que son compuestos útiles para el objetivo de este trabajo pero presentan baja concentración). Para el análisis de componentes principales (ACP) se consideró como variables activas a los compuestos que, de acuerdo a la literatura, presentan propiedades acumulativas y de transferencia en mamíferos marinos (Aguilar & Borrell, 1988; Aguilar *et al.*, 2002; Borrell *et al.*, 1995; Tanabe *et al.*, 1987). El resto de los compuestos de frecuencia mayor a 50% en las biopsias fueron considerados como variables suplementarias. Estas concentraciones fueron transformadas a logaritmos para homogenizar la varianza de los datos. La formación de los grupos se obtuvo mediante el análisis del diagrama en modo R del ACP y del diagrama de árbol (en distancia euclidiana con el vecino más cercano) obtenido de las variables activas sin considerar el sexo de las ballenas.

Debido a que diversos estudios han observado que hay diferencias significativas en la concentración de determinados compuestos persistentes como en el caso del 4,4-DDE y Σ PCB y sus proporciones entre individuos machos adultos con hembras adultas y ausencia de diferencias significativas entre individuos jóvenes de diferente sexo (Aguilar & Borrell, 1988), se llevó a cabo la comparación entre sexos de manera individual en cada grupo. Las concentraciones transformadas y sin transformar no cumplieron el criterio de normalidad (Prueba de Kolmogorov-Smirnov) y homoscedasticidad (Prueba de Levene) de los análisis estadísticos descriptivos, sin embargo se utilizó la prueba paramétrica multivariada T^2 de Hotelling la cual es lo suficientemente robusta para datos no normales (Manly, 1986). Esta prueba fue utilizada para verificar si todas las variables consideradas en conjunto sugieren diferencias en las concentraciones de contaminantes entre grupos o sexos. Para comparar las proporciones 4,4-DDE/ Σ DDT y Σ DDT/ Σ PCB entre sexos y grupos se agregó la variable Σ DDT. De acuerdo a Aguilar (1984) dichas proporciones reflejan las características de la zona en la que se alimentan las ballenas. Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa Statistica versión 6.0.

Finalmente, para mostrar el comportamiento de la transferencia de contaminantes en hembras se buscó la línea de tendencia mediante regresión lineal que mejor se ajustara a los datos de concentración de los compuestos que presentaron diferencias entre grupos y sexos y edad mínima estimada. Dicho ajuste se basó en el mayor coeficiente de correlación (r^2) obtenido. Para ello, se usó el programa Office Excel 2003.

6. RESULTADOS

6.1. Control de calidad

La identificación de los plaguicidas y PCB se realizó identificando cada uno de los picos en los tiempos de retención determinados de acuerdo a los estándares de referencia utilizados (Figura 3 y anexo III).

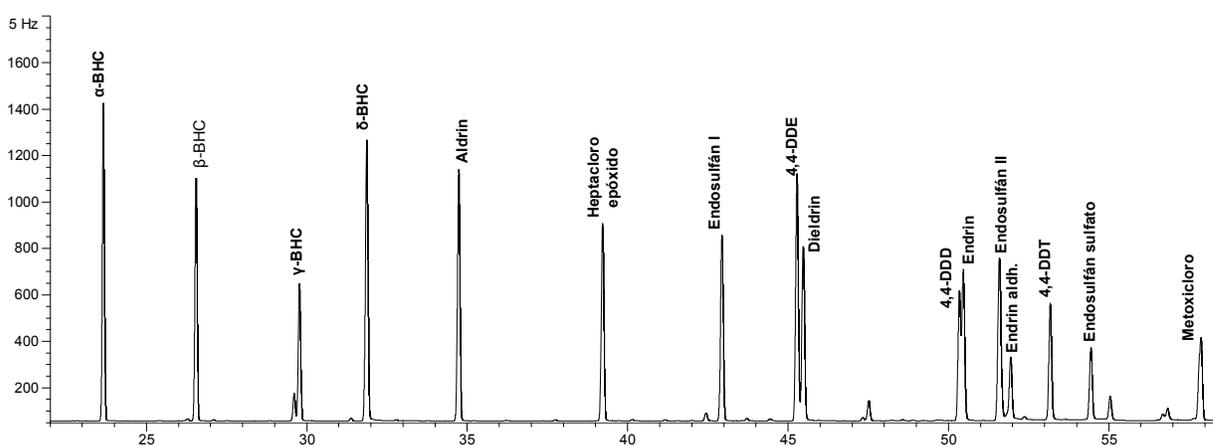


Figura 3. Cromatograma de la mezcla con 16 congéneres de plaguicidas empleado como referencia para la identificación y cuantificación de los picos.

A partir de las áreas obtenidas de cada uno de los compuestos en dichos estándares se determinaron las áreas relativas con respecto al estándar interno utilizado para obtener la curva de calibración correspondiente y obtener con ella las concentraciones de los contaminantes en las biopsias. En el anexo IV se muestran los cromatogramas representativos de la identificación de los plaguicidas y PCB en dos biopsias. Los resultados del porcentaje de recuperación de los plaguicidas organoclorados y PCBs para cada una de las biopsias en su mayoría cae dentro del

estándar establecido obteniéndose un porcentaje de recuperación de 81-86 % (anexo V).

6.1.1. Análisis de control interno

El material de referencia SRM-1945 certifica concentraciones para 27 PCBs y 15 plaguicidas organoclorados (Schantz *et al.*, 1995). En el presente estudio se llevó a cabo el análisis de 41 PCBs (15 compuestos certificados) y 20 plaguicidas organoclorados (10 compuestos certificados), a partir de los cuales se obtuvo el porcentaje de recuperación de los compuestos certificados y por lo tanto, la eficiencia de extracción en el método utilizado.

Se analizaron un total de 7 sub-muestras del material de referencia procesándose de igual forma que las muestras de grasa de ballena azul. La eficiencia general del proceso de extracción fue de 70.6% considerándose un buen proceso analítico. Los porcentajes de recuperación oscilaron en un rango de 45% - 93% para los plaguicidas certificados, exceptuando el γ -BHC que fue obtenido con bajo nivel de recuperación (26%) y 2,4-DDT y dieldrin que no fueron obtenidos al final del proceso. Para los PCBs certificados el porcentaje de recuperación fue entre el 45% - 154%, mientras que el PCB-18 al final no fue recuperado (Tabla 2).

Finalmente, los plaguicidas fueron obtenidos con una precisión de ± 0.006 ng/g tejido y los PCBs con ± 0.004 ng/g tejido.

Tabla 2. Comparación de las concentraciones promedio (expresadas en ng/g lípido) del material de referencia obtenidas en el IIO con respecto a la organización certificadora NIST.

	Compuesto	Promedio obtenido (D.E.)	Promedio NIST (D.E.)	% Recuperación
PLAGUICIDAS	α-BHC	10.6 (7.3)	14.4 (1.3)	74
	γ-BHC	0.7 (1.8)	2.6 (0.37)	26
	β-BHC	0.2 (0.6)	ND	-
	Heptacloro epóx.	8.5 (5.9)	10.1 (1.2)	84
	2,4 DDT	0.0	98 (10)	0.0
	2,4 DDE	10.9 (1.6)	11.7 (0.7)	93
	4,4 DDE	405.9 (48.9)	453.0 (25)	90
	2,4 DDD	8.5 (14)	16.2 (1.4)	52
	4,4 DDD	119.6 (30.7)	132.4 (9.1)	90
	Dieldrin	0.0	35.5 (3.1)	0.0
	BIFENILOS POLICLORADOS	PCB-18	0.00	3.8 (0.3)
PCB-28		7.5 (1.1)	14.1 (0.47)	53
PCB-52		21.0 (2.5)	42.8 (2.9)	49
PCB-87		13.3 (2.3)	17.7 (0.91)	75
PCB-101		79.6 (12.6)	66.3 (4.3)	120
PCB-105		20.7 (6.5)	30.0 (2.4)	69
PCB-149		47.7 (22.1)	106.6 (7.5)	45
PCB-151		17.2 (2.8)	26.7 (2.4)	65
PCB-156		7.9 (2.5)	10.9 (0.66)	72
PCB-170		28.8 (6)	20.1 (1.3)	143
PCB-180		90.9 (40.5)	108.8 (6.7)	84
PCB-183		23.3 (11)	36.0 (2.8)	65
PCB-187		89.2 (16)	103.1 (6.7)	87
PCB-194		44.6 (8.8)	41.3 (2.6)	108
PCB-206		47.2 (2.7)	30.7 (1.9)	154

6.2. Concentración de plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados en las ballenas azules

La concentración reportada en unidades ng/g de tejido de los 20 plaguicidas organoclorados y 40 PCBs en la grasa de cada ballena azul (Anexo VI y VII) fue normalizada a unidades de ng/g lípido (Tabla 3 y 4) por medio del porcentaje de lípidos totales en la grasa de cada ballena azul (Anexo VIII). Los límites de detección obtenidos para cada compuesto se muestran en el Anexo IX.

Tabla 3. Concentración de plaguicidas organoclorados (ng/g lípido) en grasa de las ballenas azules del Golfo de California

	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	Σ -BHC	2,4 DDT	4,4 DDT	2,4 DDE	4,4 DDE	2,4 DDD	4,4 DDD	Σ -DDT
Biopsia												
453	-	13.0	1.5	-	14.5	-	53.0	0.010*	285.4	-	0.004*	338.4
456	-	4.8	2.1	-	6.9	-	25.1	0.005*	0.005*	-	0.004*	25.1
457	-	0.005*	0.002*	-	0.007*	-	139.7	0.005*	236.0	-	0.003*	375.7
459	-	0.004*	0.9	-	0.9	-	77.6	22.2	437.2	-	0.003*	537.0
461	-	43.9	0.007*	-	43.9	-	333.1	75.8	2145.6	-	279.2	2833.7
462	-	19.8	0.005*	-	19.8	-	58.5	28.1	606.6	-	48.5	741.7
463	-	44.1	0.005*	-	44.1	-	0.010*	0.010*	1593.0	-	259.5	1852.5
465	-	0.014*	0.007*	-	0.021*	-	0.009*	21.7	360.6	-	33.1	415.4
469	-	26.3	2.0	-	28.3	-	76.9	0.004*	555.1	-	0.005*	632.0
470	-	17.1	0.004*	-	17.1	-	758.9	62.3	1150.2	-	124.7	2096.1
471	-	0.007*	0.003*	-	0.010*	-	543.4	30.8	778.7	-	90.5	1443.4
472	-	7.2	0.003*	-	7.2	-	434.6	17.6	420.0	-	0.014*	872.2
474	-	38.7	2.0	-	40.7	-	650.6	53.8	844.9	12.1	103.1	1664.4
475	-	1.4	0.001*	-	1.4	-	3.9	0.002*	455.4	-	0.003*	459.3
476	-	0.002*	0.001*	-	0.003*	-	0.5	0.002*	0.003*	-	0.002*	0.5
477	-	10.9	2.2	-	13.1	-	43.7	33.2	516.5	-	37.1	630.5
478	-	0.011*	0.008*	-	0.019*	-	80.5	40.7	760.9	-	91.5	973.5
479	-	20.7	0.005*	-	20.7	-	65.7	28.9	646.9	-	54.0	795.5
480	-	16.2	5.1	-	21.3	-	33.2	25.2	313.4	-	26.3	398.1
481	-	0.001*	0.001*	-	0.002*	-	8.6	0.001*	1158.0	-	0.002*	1166.5
482	6.0	0.010*	2.2	-	8.2	-	0.017*	0.011*	0.009*	-	0.013*	0.050*
483	-	38.4	1.3	-	39.7	-	0.012*	0.010*	113.7	-	13.8	127.5
484	-	47.0	0.008*	-	47.0	-	51.4	0.012*	254.2	-	38.4	344.0
485	-	0.014*	3.2	-	3.2	-	91.2	46.2	949.9	-	77.3	1164.6
486	-	34.7	0.008*	-	34.7	-	51.8	29.6	433.2	-	52.3	566.9
487	-	0.012*	0.007*	-	0.019*	-	44.4	26.4	450.9	-	0.017*	521.7
488	-	21.0	0.006*	-	21.0	-	37.8	19.7	352.0	-	0.016*	409.5
490	-	0.014*	2.3	-	2.3	-	89.7	0.015*	970.9	-	0.18*	1060.7
Frecuencia (%)	4	61	39	0	75	0	86	57	89	4	54	96

* Valores ND calculados a partir del LOD

- Valores ND con porcentaje de frecuencia en biopsias menor al 50%

Continuación Tabla 3...

	Hepta- cloro	Heptacloro epóxido	Endosulfán I ***	Endosulfán II	Endosulfán sulfato	Aldrin	Dieldrin	Endrin	Endrin aldehído	Metoxicloro	Σ Plaguicidas
Biopsia											
453	-	-	3.2	7.2	-	-	-	-	-	-	7.2
456	-	-	-	3.4	12.4	-	-	-	-	-	15.8
457	-	-	2.7	0.006*	-	-	-	-	-	-	0.006*
459	-	-	4.6	0.006*	-	-	-	-	4.8	-	4.8
461	-	18.6	27.6	10.1	-	-	-	-	10.6	7.3	46.6
462	-	-	6.7	6.8	-	-	-	-	-	-	6.8
463	-	12.6	-	0.011*	-	-	-	-	-	-	12.6
465	-	-	-	0.018*	-	-	-	-	-	-	0.018*
469	-	-	-	0.004*	20.8	-	-	-	3.4	-	24.3
470	-	6.8	13.5	9.7	-	-	-	-	8.3	-	24.8
471	-	10.6	7.7	9.1	-	-	-	-	-	-	19.7
472	-	-	3.7	0.009*	-	-	-	-	-	-	0.009*
474	-	-	9.6	0.007*	-	-	-	-	8.2	-	8.2
475	-	-	-	0.002*	-	-	-	-	-	-	0.002*
476	-	-	-	0.002*	-	-	-	-	-	-	0.002*
477	-	-	5.6	6.6	-	-	-	-	4.4	-	10.9
478	-	-	9.7	12.8	-	-	-	-	11.1	-	23.9
479	-	-	10.1	5.8	-	-	-	-	-	-	5.8
480	-	-	8.0	5.9	20.5	-	-	-	-	-	26.4
481	-	-	2.8	0.001*	-	-	-	-	-	-	0.001*
482	-	4.2	-	3.6	-	-	-	-	-	-	7.8
483	-	7.2	-	0.010*	-	-	-	-	-	-	7.2
484	-	-	-	3.3	19.5	-	-	-	-	-	22.9
485	-	-	13.1	11.0	39.0	-	-	-	-	-	50.1
486	-	-	9.6	9.7	33.2	-	-	-	-	17.2	60.1
487	-	-	10.4	5.0	17.8	-	-	-	4.0	6.6	33.5
488	-	-	-	0.012*	22.4	-	-	-	5.5	8.0	35.8
490	-	-	14.6	0.014*	-	-	-	-	8.8	10.1	19.0
Frecuencia (%)	0	21	-	53	29	0	0	0	36	18	79

* Valores ND calculados a partir del LOD

- Valores ND con porcentaje de frecuencia en biopsias menor al 50%

** El endosulfán I no fue considerado para los cálculos ya que coeluye con el PCB 99.

Tabla 4. Concentración de PCBs (ng/g lípido) en grasa de las ballenas azules del Golfo de California.

	PCB 18	PCB 28	PCB 52	PCB 49	PCB 44	PCB 37	PCB 74	PCB 70	PCB 66	PCB 101	PCB 99**	PCB 119	PCB 87	PCB 110	PCB 81	PCB 151	PCB 77	PCB 149	PCB 123	PCB 118	
Biopsia																					
453	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0	-	-	2.8	-	-	7.0	
456	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.016*	-	-	2.4	
457	-	-	-	-	-	-	9.8	-	-	-	1.5	-	-	-	-	-	0.020*	-	-	6.4	
459	-	-	-	-	2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	1.4	-	-	2.7	-	-	7.6	
461	-	-	-	-	-	-	7.2	-	-	15.0	18.5	-	0.8	-	-	-	0.026*	26.0	-	25.7	
462	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.9	-	-	-	-	-	5.5	8.0	-	9.8	
463	-	-	16.0	-	-	-	7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.019*	25.1	-	23.8	
465	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.030*	-	-	0.023*	
469	-	-	-	-	4.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.8	-	-	8.0	
470	-	-	9.2	-	4.5	-	6.9	-	-	14.9	8.5	-	1.9	-	-	-	0.016*	14.0	-	17.9	
471	-	-	-	-	-	-	4.9	-	-	5.6	4.5	-	-	-	-	-	4.3	11.6	-	14.1	
472	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.013*	-	-	0.011*	
474	-	-	-	-	2.9	-	-	-	-	-	6.0	-	-	-	-	-	6.9	-	-	15.4	
475	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.8	5.7	-	-	8.3	
476	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.9	0.009*	-	-	6.6	
477	-	-	-	-	2.4	-	-	-	-	7.3	3.3	-	2.2	-	-	-	3.7	7.8	-	9.6	
478	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.4	-	-	-	-	-	0.011*	-	-	29.8	
479	-	-	-	-	-	-	3.6	-	-	-	6.4	-	-	-	-	-	0.006*	9.1	-	12.3	
480	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.8	-	0.6	-	-	-	0.006*	5.6	-	0.009*	
481	-	-	-	-	3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.3	6.9	-	-	19.1	
482	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25.0	9.8	-	0.006*	
483	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.4	-	-	0.6	-	-	-	9.5	6.1	-	0.005*	
484	-	-	-	-	2.3	-	-	-	-	-	4.3	-	-	-	-	-	0.004*	-	-	0.004*	
485	-	-	-	-	4.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.002*	-	-	17.3	
486	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9	-	-	-	6.3	-	-	0.002*	
487	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.6	-	-	-	-	-	4.1	-	-	8.4	
488	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.2	4.6	-	-	-	-	-	5.3	-	-	8.5	
490	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.2	9.6	-	-	18.9	
Frecuencia(%)	0	0	7	0	29	0	21	0	0	0	-	0	21	7	0	14	54	36	0	75	

* Valores ND calculados a partir del LOD

- Valores ND con porcentaje de frecuencia en biopsias menor al 50%

** El PCB-99 no fue considerado para los cálculos ya que coeluye con el endosulfán I.

Continuación Tabla 4...

	PCB 114	PCB 168/ 153	PCB 105	PCB1 38	PCB1 58	PCB1 87	PCB1 83	PCB1 26	PCB1 28	PCB1 67	PCB2 02	PCB1 77	PCB1 56	PCB1 57	PCB1 80	PCB1 70	PCB 169	PCB1 89	PCB1 94	PCB2 06	Σ PCBs **	
Biopsia																						
453	-	4.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.006*	-	-	-	-	0.9	-	-	-	16.1
456	-	1.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.003*	-	-	-	-	0.2	-	-	-	4.3
457	-	0.005*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.004*	13.3	-	-	-	0.9	-	-	-	30.4
459	-	6.1	5.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5	-	-	0.9	-	1.4	0.4	-	-	29.7
461	-	0.007*	-	-	1.4	-	-	-	-	1.0	2.9	-	0.005*	-	9.7	2.3	-	0.007*	-	-	-	92.0
462	-	0.005*	-	-	-	-	-	-	1.1	-	-	-	0.003*	-	-	-	-	0.005*	-	-	-	24.4
463	-	0.005*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.003*	-	8.8	1.8	-	0.005*	-	-	-	83.0
465	-	0.007*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.005*	-	-	-	-	0.007*	-	-	-	0.072*
469	-	4.9	4.6	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	1.1	-	-	0.7	-	0.8	-	-	-	28
470	-	0.004*	-	-	-	-	1.5	-	-	-	-	-	2.3	-	4.1	1.4	-	0.004*	-	-	-	78.6
471	-	0.003*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.003*	-	3.0	-	-	0.004*	-	-	-	43.5
472	-	0.003*	3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8	-	-	-	-	0.003*	-	-	-	4.9
474	-	10.0	6.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.2	-	4.1	1.2	-	0.002*	-	-	-	48.9
475	-	5.7	4.5	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	1.2	-	-	0.7	-	1.0	-	-	-	30
476	-	3.1	6.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.001*	-	-	-	-	0.002*	-	-	-	18.4
477	-	0.002*	-	-	-	-	1.6	-	1.9	-	-	-	0.001*	-	-	-	-	0.002*	0.4	-	-	36.9
478	-	0.002*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.5	-	-	-	-	2.1	-	-	-	34.4
479	-	6.5	-	-	-	-	-	-	1.7	-	-	-	2.2	-	-	0.8	-	1.8	-	-	-	38
480	-	3.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.001*	-	-	-	-	1.5	-	-	-	11.2
481	-	12.9	7.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.001*	-	-	1.7	-	1.2	-	-	-	56.9
482	-	0.001*	-	-	0.7	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-	2.9	0.4	-	0.9	-	-	-	40.4
483	-	0.001*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	0.001*	-	-	-	20.2
484	-	0.000*	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9	-	1.3	4.0	-	-	-	0.001*	-	-	-	8.5
485	-	9.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.1	-	-	-	-	2.9	-	-	-	37.2
486	-	5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.000*	-	-	-	-	0.000*	-	-	-	12.2
487	-	5.4	-	-	-	-	-	-	1.3	-	-	-	1.1	-	-	-	-	0.9	-	-	-	21.2
488	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	-	-	-	-	0.9	-	-	-	26.8
490	11.1	7.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.5	-	0.7	-	-	0.006*	-	-	-	56.6
Frec. (%)	0	54	29	0	7	4	7	0	14	11	7	0	54	7	21	39	0	54	7	0	96	

* Valores ND calculados a partir del LOD

- Valores ND con porcentaje de frecuencia en biopsias menor al 50%

** El endosulfán I no fue considerado para los cálculos ya que coeluye con el PCB 99.

Del total de contaminantes analizados se encontraron 6 compuestos con una frecuencia de 53-89% en las biopsias (Tabla 5). De éstos, el β -BHC, 4,4-DDT y 4,4-DDE se encontraron con una mayor frecuencia. El 2,4-DDE y 4,4-DDD presentaron una mayor concentración que el metabolito β -BHC, sin embargo no estuvieron presentes en gran parte de las biopsias analizadas. De igual manera, la mayoría de los plaguicidas no se detectaron en las biopsias y sólo el endosulfán II se presentó en mayor frecuencia en las biopsias aunque en baja concentración.

Tabla 5. Estadística descriptiva de los plaguicidas (con frecuencia porcentual en biopsias mayor al 50%) presentes en las ballenas azules del Golfo de California.

	Frecuencia (%)	Concentración mínima (ng/g lípido)	Concentración máxima (ng/g lípido)	Concentración promedio (Desviación estándar) ng/g lípido
β-BHC	61	0.001*	47.0	14.5 (16)
4,4-DDT	86	0.009*	758.9	134.1 (208)
2,4-DDE	57	0.001*	75.8	20.1 (22)
4,4-DDE	89	0.003*	2145.6	599.6 (486)
4,4-DDD	54	0.002*	279.2	47.5 (73)
Endosulfán II	53	0.001*	12.8	3.9 (4)

* Valores ND calculados a partir del LOD.

El DDT total (Σ DDT) mostró la mayor concentración comparado al resto de los compuestos analizados (Tabla 6). El 4,4-DDE y 4,4-DDT fueron los compuestos con mayor concentración constituyendo el 75% y 16% del DDT total. El Σ BHC presentó baja concentración y el 93% correspondió al metabolito β -BHC. Finalmente, la Σ Plaguicidas exhibió baja concentración y el 23% correspondió al endosulfán II.

Tabla 6. Estadística descriptiva de grupos de contaminantes presentes en la grasa de las ballenas azules del Golfo de California.

	Concentración mínima (ng/g lípido)	Concentración máxima (ng/g lípido)	Concentración promedio (Desviación estándar) ng/g lípido
Σ BHC	0.002*	47.0	15.6 (16)
Σ DDT	0.050*	2833.7	801.7 (673)
Σ plaguicidas	0.001*	60.1	16.9 (16)
Σ PCB	0.072*	92.0	33.3 (23)

* Valores ND calculados a partir del LOD.

De acuerdo a lo anterior, los compuestos β -BHC, 4,4-DDT y 4,4-DDE presentaron mayor concentración y una mayor frecuencia en las biopsias de ballenas azules del Golfo de California (Tabla 5). Por otra parte, los compuestos: 2,4-DDE, 4,4-DDD y endosulfán II se presentaron frecuentemente pero en concentraciones más bajas con respecto a los anteriores. Finalmente, los congéneres de PCBs agrupados (Σ PCB) se presentaron en baja concentración promedio al considerar a los 40 PCBs analizados (Tabla 6).

6.2.1. Variación de plaguicidas organoclorados y PCBs de las ballenas azules

Se organizó la matriz de datos tomando en cuenta los 6 plaguicidas con mayor frecuencia (Tabla 5) más la suma de los PCBs. El resultado del análisis de componentes principales (ACP) mostró que las variables que permitían una separación y ordenación de las biopsias de una manera más clara fueron el β -BHC, 4,4-DDT, 4,4-DDE y Σ PCB quedando como variables suplementarias al 2,4-DDE, 4,4-DDD y endosulfán II. De esta manera, se eligieron los primeros dos componentes los cuales explican el 67.4% de varianza total explicada (Tabla 7).

Tabla 7. Eigenvalores y porcentaje de variación total en los componentes del ACP.

	Eigenvalor	% Varianza total	Eigenvalor acumulado	% acumulado
Componente 1	1.64	41.1	1.6	41.1
Componente 2	1.05	26.3	2.7	67.4
Componente 3	0.72	18.0	3.4	85.4
Componente 4	0.59	14.6	4.0	100.0

La proyección del primer componente (Figura 4) aunado a la ordenación de los resultados (Figura 5) muestran que la separación de las biopsias se debe a la concentración de 4,4-DDT y 4,4-DDE en las biopsias (Tabla 8), de tal modo que la mayoría de las biopsias que se encuentran ordenadas a la izquierda del eje CP1 presentan una mayor concentración de estos compuestos en comparación con las biopsias ubicadas a la derecha. Por otra parte, los contaminantes que contribuyeron

en la separación de las biopsias en el segundo componente fueron el β -BHC y el Σ PCB (Tabla 8), por lo que las biopsias ordenadas en la porción negativa poseen una mayor concentración en β -BHC, mientras que las biopsias ubicadas en la porción positiva poseen una mayor concentración en Σ PCB (Figura 5). Además el ACP muestra la formación de dos grupos, uno ubicado a la izquierda del eje CP1 que incluye individuos mayormente contaminados, mientras que el otro grupo a la derecha incluye individuos dispersos que están menos contaminados. Además el grupo de individuos contaminados a la izquierda del ACP esta dividido por el eje CP2 en dos grupos. Tanto el grupo 1 (compuesto por la mayoría de las biopsias) como el grupo 2 estan conformados por individuos hembras y machos. La única cría quedó ubicada en el grupo 2.

Tabla 8. Contribución de los compuestos organoclorados y PCB (variables activas) en grasa de las ballenas azules del Golfo de California.

Variabes activas	Factor 1	Factor 2
Σ -PCBs	0.1803	0.3682
β -BHC	0.0964	0.6184
4,4-DDT	0.3353	0.0054
4,4-DDE	0.3881	0.0081

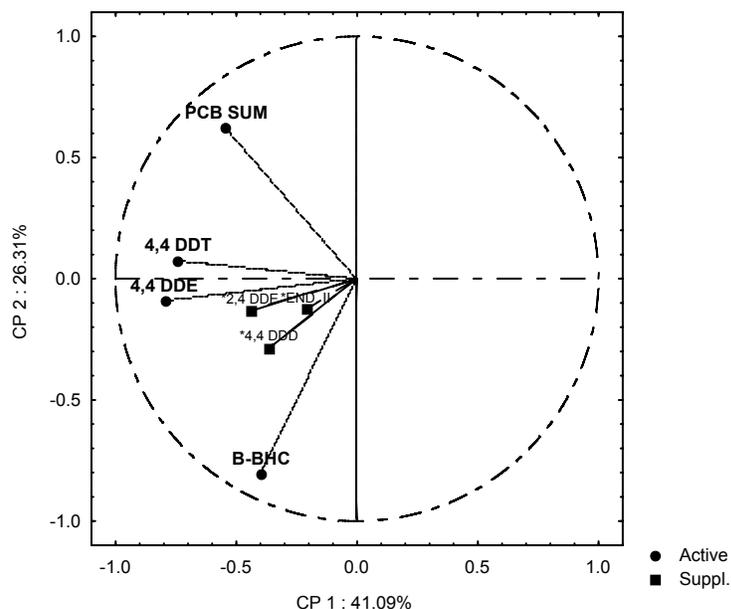


Figura 4. Proyección de las variables activas de las ballenas azules del Golfo de California sobre un plano de factores 1x2.

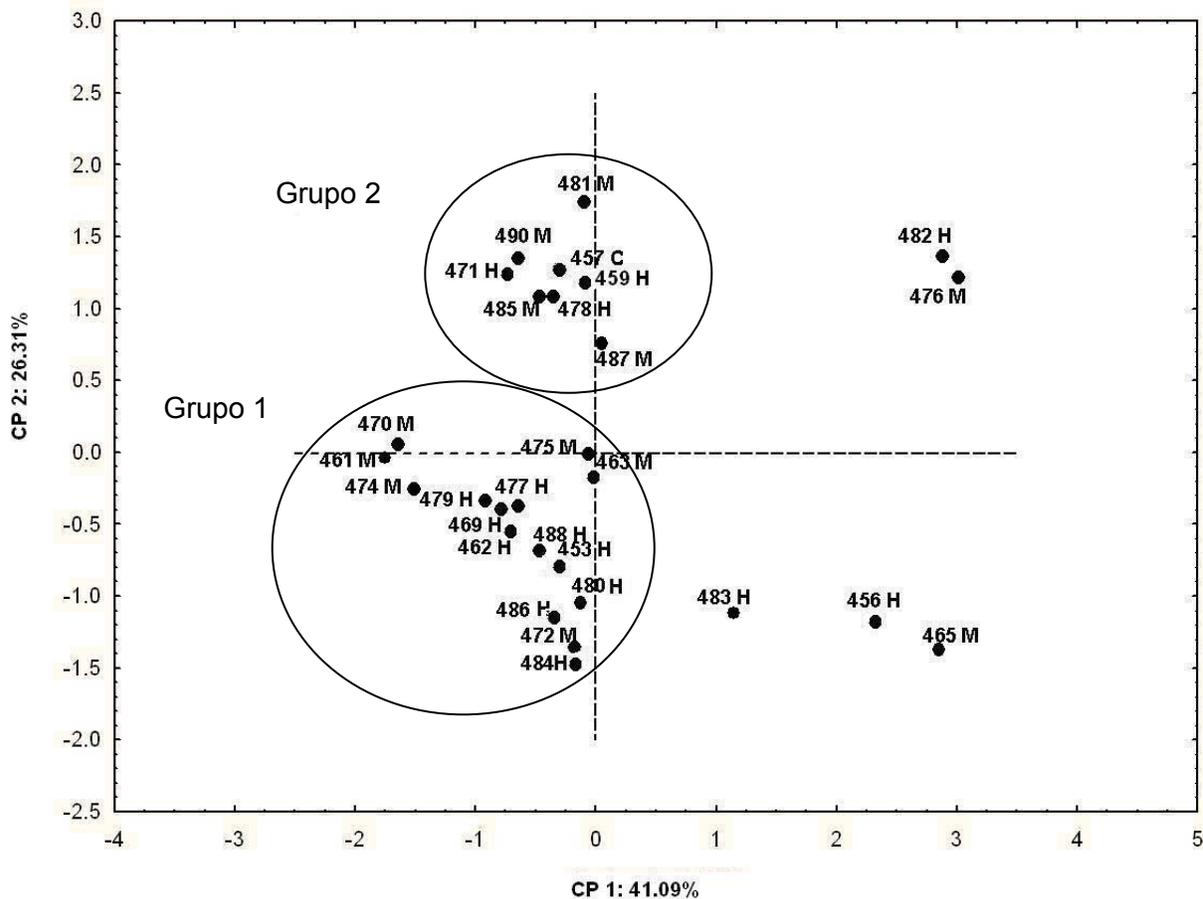


Figura 5. Ordenación de los individuos de ballena azul en función de las variables activas (H= Hembra, M= Macho, C= Cría).

El diagrama de árbol obtenido separó en dos grupos a las biopsias dejando a 7 ballenas sin formar grupos aparentes a un corte al nivel de 1.25 (Figura 6). Los grupos 1 y 2 se constituyeron de hembras y machos encontrándose la mayor cantidad de biopsias en el grupo 1. La cría quedó ubicada en el grupo 2.

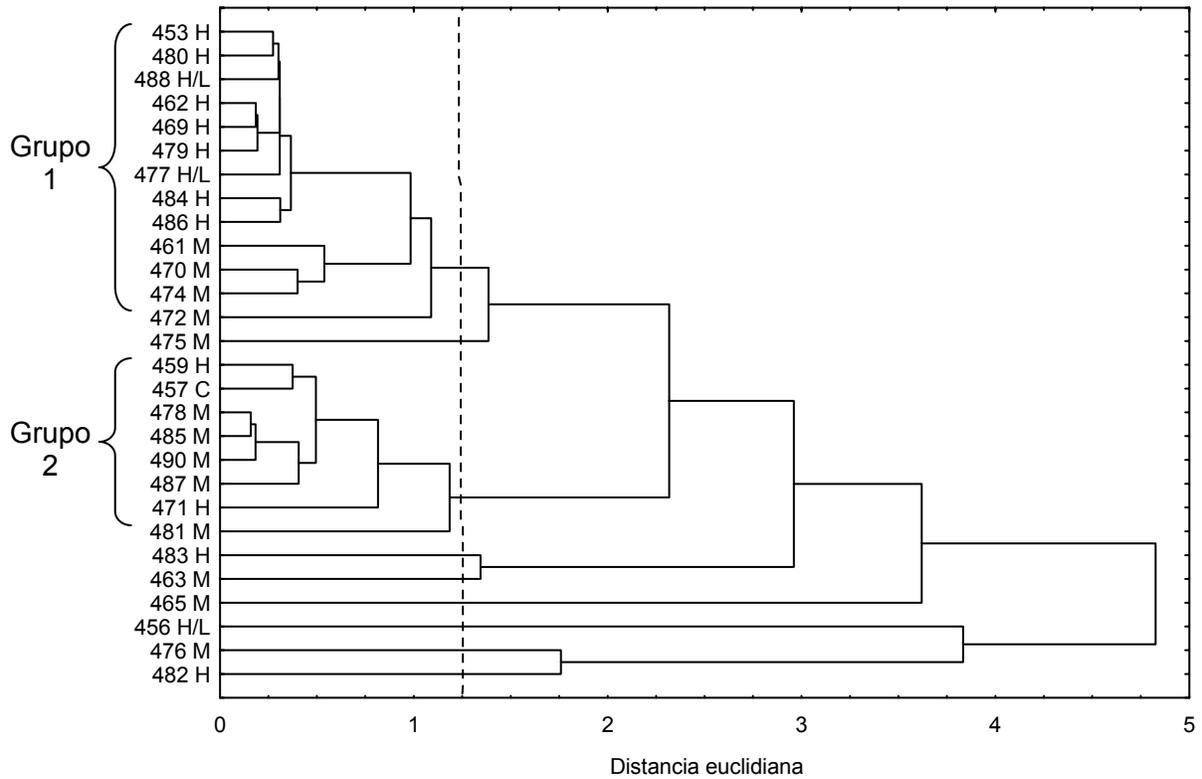


Figura 6. Diagrama de árbol de las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California. (M= Macho, H= Hembra, H/L= Hembra lactante, C= Cría)

La separación de individuos contaminados vs. poco contaminados así como la formación grupos 1 y 2 realizado por el diagrama de árbol y el ACP resultó igual a excepción de dos individuos (biopsias 463 y 475). En ambos casos, los individuos no agrupados presentaron los menores niveles en concentración en 4,4-DDT y 4,4-DDE. La separación del grupo 1 con respecto al 2 estuvo dada básicamente por la concentración de β -BHC y del 4,4-DDT con la mayor concentración en el grupo 1 (Tabla 9)

Tabla 9. Estadística descriptiva de las variables activas (expresadas en ng/g lípido) en las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California.

	β-BHC		4,4-DDT		4,4-DDE		ΣPCB	
	Concentración mín. – máx.	Promedio (D.E.)	Concentración mín. – máx.	Promedio (D.E.)	Concentración mín. – máx.	Promedio (D.E.)	Concentración mín. – máx.	Promedio (D.E.)
Grupo 1 <i>n</i> = 13	7.1 – 47.0	24.3 (12.8)	33.2 – 758.9	203.8 (255.8)	254.2 - 2145.6	655.7 (511.9)	4.9 – 92	32.8 (26.7)
Grupo 2 <i>n</i> = 8	0.001* - 0.014*	0.008* (0.004)	8.6 – 543.4	134.4 (169.6)	236.0 – 1158.0	717.8 (316.1)	21.2 – 56.9	38.7 (12.8)

D.E.= Desviación estándar, * valores calculados a partir de datos ND.

En el transcurso del muestreo realizado para el presente estudio se obtuvieron dos biopsias para una misma ballena, por lo que las biopsias 485 y 490 corresponden al mismo individuo (Tabla 10). Los resultados del análisis de control de calidad muestran que ambas biopsias se obtuvieron con porcentajes de recuperación comparables. Ambas biopsias presentaron concentraciones de contaminantes similares ubicándose dentro del mismo grupo en el diagrama de árbol (Figura 6).

Tabla 10. Concentraciones promedio (expresado en ng/g lípido) obtenidas en la ballena foto-recapturada

	Biopsia	Fecha de muestreo	B-BHC	Endo-sulf. II	4,4-DDT	4,4-DDE	2,4-DDE	4,4-DDD	ΣDDT	ΣPCB	% Recuperación prom.
			Balle-na 1	485 (M)	14/04/05	0.014*	11	91.2	949.9	46.2	77.3
	490 (M)	14/04/05	0.014*	0.014*	89.7	970.9	0.015*	0.18*	1060.7	56.9	87

(M)=Macho, * valores calculados a partir de datos ND

6.2.2. Historial de avistamiento

Este trabajo comprendió el análisis de un total de 27 ballenas azules (27 biopsias + 1 recaptura) de las cuales 14 son hembras (3 hembras Lactantes), 12 machos y una cría. Del total de ballenas analizadas, 9 individuos (7 hembras y 2 machos) fueron previamente foto-identificados por lo que se tiene su historial de avistamientos (Tabla 11). Así, estos individuos conocidos representan el 33% de esta

muestra estudiada y el resto fue conformado por individuos nuevos o no conocidos previamente.

Tabla 11. Historial de avistamientos de las ballenas azules del Golfo de California del presente estudio.

			AÑO DE AVISTAMIENTO																	Edad mín.	
Sexo	#ID	Biops	'88	'89	'90	'91	'92	'93	'94	'95	'96	'97	'98	'99	00	'01	'02	'03	'04	'05	Años
G 1*	H	303	462																		6
	H	251	479																		8
	H	175	484																		9
	H	99	453																		15
	M	7	461	⊗									⊗								⊗
G 2*	H	396	471																		4
	H	127	459																		10
	M	12	463			⊗					⊗		⊗								16
	H	451	456																		9



*G1, G2 representan los grupos formados en la Figura 6, los individuos #ID 12 y 451 no se agruparon.

Con base al historial de cada ballena se observa que los grupos que fueron formados anteriormente se encuentran constituidos tanto de machos como de hembras (Tabla 11). Además, el mayor número de individuos conocidos se centran en el grupo 1 con cinco ballenas previamente identificadas: un macho adulto (#ID 7) de edad mínima de 18 años y cuatro hembras (#ID 303, #ID 251, #ID 175 y #ID 99) de edad mínima entre 6 y 15 años. De estas hembras dos han sido observadas con cría, una de ellas se presume es su primera cría mientras la segunda no se ha encontrado en estado de lactancia recientemente. El grupo 2 sólo esta conformado de dos individuos conocidos, las hembras (#ID 396 y #ID 127). De acuerdo al historial de ambas hembras la primera tiene edad mínima de 4 años por lo que es posible que no sea sexualmente madura todavía mientras que la otra ballena tuvo dos crías en los últimos 5 años. Finalmente, dos ballenas con historial de

avistamiento (#ID 12 y #ID 451 respectivamente) se ubican fuera de los grupos formados, ambos individuos son adultos: el primero un macho de edad mínima de 16 años el segundo, una hembra de 9 años acompañada de su cría y siendo la única hembra lactante conocida con biopsia en este estudio.

6.2.3. Variación de plaguicidas y PCBs entre sexos y grupos.

a) Variación entre sexos

La comparación de las variables más importantes obtenidas entre sexos muestra que de manera general machos y hembras de ballena azul no presentaron diferencias ($F_{(10,16)} = 2.2$, $P > 0.05$), a pesar de encontrarse diferencias en 4,4-DDE, Σ DDT y Σ PCB en mayor concentración en los machos (Tabla 12).

Tabla 12. Estadística descriptiva entre sexos (expresados en ng/g lipido) en las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California.

	Hembras <i>n</i> = 14		Machos <i>n</i> = 13 (+ 2 réplicas)		Probabilidad ^a
	Mín.-Máx.	Promedio (D.E.)	Mín.-Máx.	Promedio (D.E.)	
β-BHC	0.004* - 47.0	18 (15)	0.001* - 44.1	11.7 (18)	n.s.
ENDOSULFAN II	0.004* - 9.7	4.4 (3)	0.001* - 12.8	3.7 (5)	n.s.
4,4-DDT	0.012* - 543.4	79.9 (136)	0.009* - 758.9	192 (265)	n.s.
4,4-DDE	0.005* - 778.7	378.1 (236)	0.003* - 2145.6	866.2 (571)	< 0.01
2,4-DDE	0.004* - 33.2	15.55 (14)	0.001* - 75.8	26.5 (27)	n.s.
4,4-DDD	0.003* - 90.5	25.8 (29)	0.002* - 279.2	74.5 (98)	n.s.
ΣDDT	0.05* - 1443.4	499.3 (367.9)	0.5* - 2833.7	1160.1 (782)	< 0.01
ΣPCB	4.3 - 43.5	24.3 (13)	0.72* - 92	43.3 (29)	< 0.05
4,4-DDE/ ΣDDT	-	0.70 (0.27)	-	0.72 (27)	n.s.
ΣDDT/ ΣPCB	-	22.4 (14)	-	477 (1590)	n.s.

D.E. = Desviación estándar.

* valores calculados a partir de ND.

^a La significancia estadística se fijó a $P \leq 0.05$.

b) Variación entre grupos

El análisis de comparación entre individuos de los grupos 1 y 2 muestra que difieren significativamente ($F_{(10,10)}=5.4$, $P<0.01$). Dicha diferencia se debe al compuesto β -BHC el cual exhibe las mayores concentraciones en individuos del grupo 1, mientras que los individuos del grupo 2 no presentaron niveles detectables de este compuesto (Tabla 13).

Tabla 13. Estadística descriptiva entre grupos (expresados en ng/g lípido) en las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California.

	Grupo 1 <i>n</i> = 13 (9 hembras y 4 machos)		Grupo 2 <i>n</i> = 8 (2 hembras, 5 machos y 1 cría)		Probabilidad ^a
	Mín.-Máx.	Promedio (D.E.)	Mín.-Máx.	Promedio (D.E.)	
β -BHC	7.2 - 47.0	24.3 (13)	0.001* - 0.014*	0.009* (0.005)	<0.001
ENDOSULFAN II	0.004 - 10.1	5 (4)	0.001 - 12.8	4.7 (6)	n.s.
4,4-DDT	33.2 - 758.9	203.8 (256)	8.6 - 543.4	134.4 (170)	n.s.
4,4-DDE	254.2 - 2145.6	655.7 (512)	236 - 1158	717.8 (316)	n.s.
2,4-DDE	0.004* - 75.8	28.8 (23)	0.001* - 46.2	20.8 (18)	n.s.
4,4-DDD	0.004 - 279.2	58.7 (77)	0.002* - 91.5	32.4 (15)	n.s.
Σ DDT	338.4 - 2833.7	948 (771)	375.7 - 1443.4	905.4 (381)	n.s.
Σ PCB	4.9 - 92	32.8 (27)	21.2 - 56.9	38.7 (13)	n.s.
4,4-DDE/ Σ DDT	-	0.74 (0.14)	-	39.9 (42)	n.s.
Σ DDT/ Σ PCB	-	0.79 (0.15)	-	23.4 (7)	n.s.

*valores calculados a partir de datos ND

^a La significancia estadística se fijó a $P \leq 0.05$

La comparación de los niveles de contaminación existentes entre sexos de cada grupo mostró que hembras y machos del grupo 1 presentan diferencias significativas ($F_{(6,6)}=49.3$, $P<0.001$; Tabla 14). Esta diferencia se debe principalmente a los niveles de concentración del 4,4-DDT, 4,4-DDE, Σ DDT y Σ PCB los cuales se encuentran en mayor concentración en machos. Por otra parte, machos y hembras de este mismo grupo no presentaron diferencias significativas en el compuesto β -BHC. En cuanto a las proporciones sólo la proporción 4,4-DDE/ Σ DDT mostró diferencias significativas (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis de comparación en la concentración de contaminantes (expresadas en ng/g lípido) entre ballenas azules machos y hembras del grupo 1.

	Sexo	Biopsia	β -BHC	Endo-sulfán II	4,4-DDT	4,4-DDE	2,4-DDE	4,4-DDD	Σ DDT	Σ PCB	4,4-DDE/ Σ DDT	Σ DDT/ Σ PCB
Grupo 1	H	462	19.8	6.8	58.5	606.6	28.1	48.5	741.7	24.4	0.82	30.4
	H	469	26.3	0.004*	76.9	555.1	0.004*	0.005*	632.0	28.0	0.88	22.6
	H	479	20.7	5.8	65.7	646.9	28.9	54.0	795.5	38.0	0.81	20.9
	H/L	477	10.9	6.6	43.7	516.5	33.2	37.1	630.5	36.9	0.82	17.1
	H	453	13.0	7.2	53.0	285.4	0.010	0.004*	0.004*	16.1	0.84	21.0
	H	480	16.2	5.9	33.2	313.4	25.2	26.3	398.1	11.2	0.79	35.5
	H/L	488	21.0	0.012*	37.8	352.0	19.7	0.016*	409.5	26.8	0.86	15.3
	H	484	47.0	3.3	51.4	254.2	0.012	38.4	344.0	8.5	0.74	40.5
	H	486	34.7	9.7	51.8	433.2	29.6	52.3	566.9	12.2	0.76	46.5
	M	461	43.9	10.1	333.1	2145.6	75.8	279.2	2833.7	92.0	0.76	30.8
	M	470	17.1	9.7	758.9	1150.2	62.3	124.7	2096.1	78.6	0.55	26.7
	M	474	38.7	0.007*	650.6	844.9	53.8	103.1	1664.4	48.9	0.51	34.0
	M	472	7.2	0.009*	434.6	420	17.6	0.014*	872.2	4.9	0.48	178.0
Probabilidad^a			n.s.	n.s.	<0.001	<0.05	<0.001	<0.05	<0.001	<0.05	<0.001	n.s.

^a La significancia estadística se fijó a $P \leq 0.05$

En contraste, no se presentaron diferencias significativas en los niveles de contaminación entre machos y hembras del grupo 2 y a diferencia del grupo 1, ningún individuo presentó niveles detectables del metabolito β -BHC (Tabla 15).

Tabla 15. Análisis de comparación en la concentración de contaminantes (expresadas en ng/g lípido) entre ballenas azules machos y hembras del grupo 2.

	Sexo	Biopsia	β -BHC	Endo-sulfán II	4,4-DDT	4,4-DDE	2,4-DDE	4,4-DDD	Σ DDT	Σ PCB	4,4-DDE/ Σ DDT	Σ DDT/ Σ PCB
Grupo 2	H	459	0.004*	0.006*	77.6	437.2	22.2	0.003*	537.0	29.7	0.81	18.1
	H	471	0.007*	9.1	543.4	778.7	30.8	90.5	1443.4	43.5	0.54	33.2
	M	481	0.001*	0.001*	8.6	1158.0	0.001*	0.002*	1166.5	56.9	0.99	20.5
	M	478	0.011*	12.8	80.5	760.9	40.7	91.5	973.5	34.4	0.78	28.3
	M	485	0.014*	11.0	91.2	949.9	46.2	77.3	1164.6	37.2	0.82	31.3
	M	487	0.012*	5.0	44.4	450.9	26.4	0.017*	521.7	21.2	0.86	24.6
	M	490	0.014*	0.014	89.7	970.9	0.015*	0.18*	1060.7	56.6	0.92	18.7
Probabilidad^a			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

^a La significancia estadística se fijó a $P \leq 0.05$

* Valores calculados a partir de datos ND

Los niveles de contaminación en las hembras del grupo 1 (Tabla 16), fueron significativamente diferentes a los individuos de ambos sexos del grupo 2 ($F_{(10,6)} = 4.9$, $P < 0.05$). Las hembras del grupo 1 mostraron las mayores concentraciones en β -BHC, mientras que los compuestos más lipofílicos (4,4-DDE, Σ DDT y Σ PCB) se encontraron en mayor concentración en los individuos del grupo 2.

Tabla 16. Análisis de comparación en la concentración de contaminantes (expresados en ng/g lipido) entre ballenas azules hembras del grupo 1 y del grupo 2 de ambos sexos.

	Sexo	Biopsia	β -BHC	Endo-sulfán II	4,4-DDT	4,4-DDE	2,4-DDE	4,4-DDD	Σ DDT	Σ PCB	4,4-DDE/ Σ DDT	Σ DDT/ Σ PCB
Grupo 1	H	462	19.8	6.8	58.5	606.6	28.1	48.5	741.7	24.4	0.82	30.4
	H	469	26.3	0.004*	76.9	555.1	0.004*	0.005*	632.0	28.0	0.88	22.6
	H	479	20.7	5.8	65.7	646.9	28.9	54.0	795.5	38.0	0.81	20.9
	H/L	477	10.9	6.6	43.7	516.5	33.2	37.1	630.5	36.9	0.82	17.1
	H	453	13.0	7.2	53.0	285.4	0.010	0.004*	0.004*	16.1	0.84	21.0
	H	480	16.2	5.9	33.2	313.4	25.2	26.3	398.1	11.2	0.79	35.5
	H/L	488	21.0	0.012*	37.8	352.0	19.7	0.016*	409.5	26.8	0.86	15.3
	H	484	47.0	3.3	51.4	254.2	0.012	38.4	344.0	8.5	0.74	40.5
	H	486	34.7	9.7	51.8	433.2	29.6	52.3	566.9	12.2	0.76	46.5
Grupo 2	H	459	0.004*	0.006*	77.6	437.2	22.2	0.003*	537.0	29.7	0.81	18.1
	H	471	0.007*	9.1	543.4	778.7	30.8	90.5	1443.4	43.5	0.54	33.2
	M	481	0.001*	0.001*	8.6	1158.0	0.001*	0.002*	1166.5	56.9	0.99	20.5
	M	478	0.011*	12.8	80.5	760.9	40.7	91.5	973.5	34.4	0.78	28.3
	M	485	0.014*	11.0	91.2	949.9	46.2	77.3	1164.6	37.2	0.82	31.3
	M	487	0.012*	5.0	44.4	450.9	26.4	0.017*	521.7	21.2	0.86	24.6
	M	490	0.014*	0.014	89.7	970.9	0.015*	0.18*	1060.7	56.6	0.92	18.7
Probabilidad^a			<0.001	n.s.	n.s.	<0.05	n.s.	n.s.	<0.05	<0.05	n.s.	n.s.

^a La significancia estadística se fijó a $P < 0.05$

* Valores calculados a partir de datos ND

6.2.4. Variación de plaguicidas organoclorados y PCBs con la edad

Los compuestos que presentaron diferencias entre grupos y sexos (β -BHC, 4,4-DDE, 4,4-DDE, Σ DDT y Σ PCB) se graficaron con respecto a la edad mínima de hembras y machos conocidos (Figura 7). En machos no fue posible realizar una regresión ya que sólo se encontraron dos machos conocidos. Para las hembras la

ΣDDT mostró el mayor valor de correlación obtenido ($r^2= 0.80$) con el modelo logarítmico (Tabla 17).

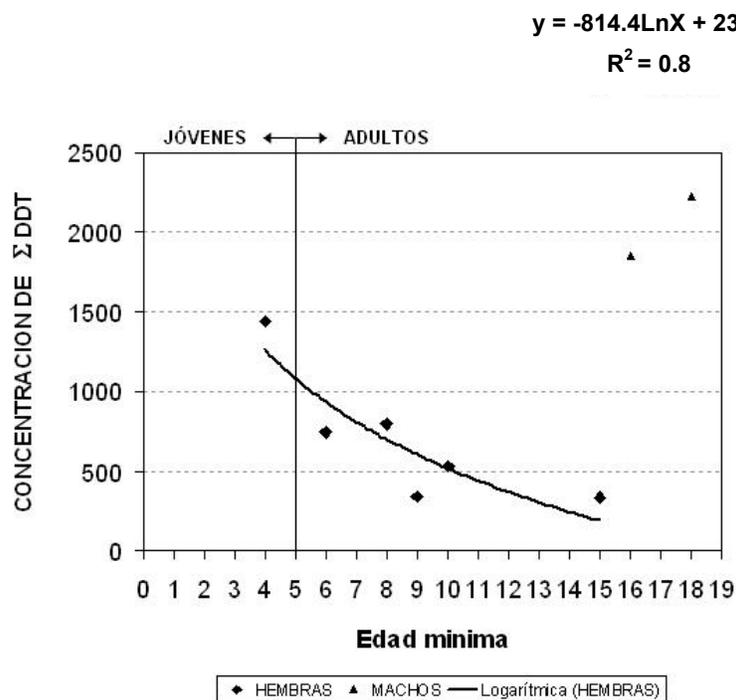


Figura 7. Variación de concentración de ΣDDT (expresada en ng/g lípido) en hembras conocidas de ballena azul del Golfo de California.

Tabla 17. Coeficientes de correlación (concentración x edad mínima) de los diferentes modelos empleados en hembras conocidas de ballena azul

	β-BHC	4,4-DDT	4,4-DDE	Σ DDT	Σ PCB
Modelo lineal	0.03	0.38	0.65	0.65	0.30
Modelo logarítmico	0.03	0.38	0.71	0.80	0.32
Modelo exponencial	0.14	0.40	0.60	0.70	0.22
Modelo potencial	0.13	0.58	0.65	0.79	0.25

Los dos machos adultos (#ID 7 y 12) representados en la gráfica muestran las mayores concentraciones en ΣDDT, lo cual se atribuye a los procesos de bioacumulación. Por otra parte, la hembra conocida (#ID 396, ubicada en el grupo 2)

cuya edad mínima se estima de 4 años mostró la mayor concentración de Σ DDT, mientras que el resto de las hembras presentaron niveles menores.

6.2.5. Variación de plaguicidas organoclorados y PCBs en la hembra y su cría.

En el presente trabajo fue posible obtener concentraciones de contaminantes en grasa de la hembra lactante (biopsia 456) y de su cría (biopsia 457). El historial de esta hembra conocida (#ID 451) nos permite acertar que esta cría no fue la primera de esta ballena ya que se observó con otra cría en el año 2001.

Los resultados de la biopsia de esta hembra lactante muestran bajos niveles de contaminación, situándola por fuera de los grupos 1 y 2 (Figura 6). Comparando las concentraciones de contaminantes en hembra lactante y su cría (Tabla 18) se observa que la cría posee niveles más altos en todos los contaminantes, exceptuando el β -BHC, el cual corresponde al compuesto menos lipofílico. Por otro lado, tanto en la hembra como en la cría se observa que el Σ DDT es proporcionalmente mayor con respecto al Σ PCB. En el caso de la cría esta proporción es dos veces más que en la hembra.

Tabla 18. Concentración de contaminantes (ng/g lípido) en biopsias de grasa de madre y cría de ballena azul.

	Biopsia	β -BHC	4,4 DDT	4,4 DDE	4,4 DDD	Σ DDT	Σ PCB	t DDT/ Σ PCB
Hembra	456	4.8	25.11	ND	ND	25.11	4.30	5.84
Cría	457	ND	139.7	236.0	ND	375.73	30.4	12.36

7. DISCUSIÓN

Los contaminantes orgánicos persistentes existen en el ambiente marino por lo que su determinación es de alta importancia en el monitoreo de la salud de las poblaciones marinas. Los resultados presentados en este trabajo coinciden con estudios previos de bioacumulación y transferencia de contaminantes a crías, comportamiento demostrado para otras especies de mamíferos marinos donde se observan diferencias significativas entre grupos de edad y sexo (machos adultos, hembras adultas y juveniles). Además, este trabajo subraya el potencial de estos contaminantes en la aproximación del estado de madurez sexual de un mysticeto, información faltante en poblaciones actuales y que se aborda por primera vez para la ballena azul.

Las ballenas azules que se observan en el Golfo de California en invierno y primavera migran estacionalmente a altas latitudes durante los meses de verano (Calambokidis *et al.*, 1990) donde se alimentan extensivamente (Fiedler *et al.*, 1998) para después volver al Golfo de California probablemente a dar a luz y amamantar a sus crías y contrariamente a lo que se pensaba antes, también alimentarse (Gendron, 1990; Del Ángel-Rodríguez, 1997). La alimentación en el Golfo de California, aunque no se ha cuantificado, se considera de menor intensidad que en las zonas de alimentación de verano. Las principales zonas de alimentación conocidas desde la época ballenera fueron el Golfo de Alaska y la región al sur de las islas Aleutianas (Rice, 1974). Desde la protección de esta especie en 1966 (IWC, 1966), pocas ballenas azules han sido observadas en estas zonas de alimentación (Reeves *et al.*, 1998; Forney *et al.*, 2000) y al parecer cambiaron estas zonas por el área fuera de la costa central de California, E.U. (Calambokidis *et al.*, 1990) lugar en donde se le ha encontrado con mayor frecuencia desde 1980 durante los meses de agosto hasta principios de octubre. A pesar de ello, el conocimiento del movimiento estacional de la ballena azul es todavía muy general y no se descarta la posibilidad

de que las ballenas azules siguen migrando hasta las zonas de alimentación de altas latitudes previamente conocidas.

Es precisamente en las zonas de alimentación donde las concentraciones de contaminantes entran en la cadena trófica por procesos de bioacumulación. La zona costera-océánica de California se caracteriza por poseer un ambiente oceanográfico complejo, se encuentra limitada hacia el oeste por la corriente de California cuyo flujo de agua fría proveniente de altas latitudes provoca continuas surgencias aportando gran cantidad de nutrientes a las aguas superficiales (Schiff *et al.*, 2000). Es posible encontrar numerosos reportes de concentraciones de PCBs y plaguicidas para esta zona tanto en sedimentos (Schiff *et al.*, 2000), micro-capa superficial del agua (Wurl & Obrad, 2004), peces de alimentación profunda y superficial (Froescheis *et al.*, 2000) y lobos marinos (*Zalophus californianus*) (Connolly & Glaser, 2002; Sørmo *et al.*, 2003). Los reportes en cetáceos son escasos; entre ellos se encuentran en ballena gris, *Eschrichtius robustus* (Krahn *et al.*, 2001), ballena piloto, *Globicephala macrorhynchus* (Weisbrod *et al.*, 2001) y en un individuo de ballena minke (Schafer *et al.*, 1984 citado por O'Shea & Brownell, 1994).

En esta región, la contaminación por plaguicidas, cuyo compuesto en mayor concentración es el DDE se atribuye a 1) las escorrentías por lluvias, 2) al riego de campos agrícolas en Valle Salinas y San Joaquín donde cruzan los ríos del mismo nombre y los cuales desembocan en el santuario marino de Bahía Monterey (Looser *et al.*, 2000), 3) por la planta de tratamiento de aguas residuales Whites Point localizado al sur de California (Connolly & Glaser, 2002), así como 4) distintas áreas de la plataforma de San Pedro son impactadas por la descarga de aguas residuales provenientes de zonas cercanas al condado de Orange y por entrada de ríos cercanos a la boca del Río de Santa Ana y Bahía Newport (Schiff *et al.*, 2000).

Los niveles de PCBs encontrados en sedimentos en esta área se atribuyen presumiblemente a 1) la zona industrializada colindante a la costa, 2) descargas de actividades militares de Estados Unidos y 3) actividades pesqueras comerciales (Schiff *et al.*, 2000). Al igual que el DDE, es posible encontrar numerosos reportes de organismos con altos niveles de concentración de PCB en esta zona (O'Shea *et al.*, 1980; Froescheis *et al.*, 2000; Wurl & Obrad, 2004).

En contraste, es interesante notar que ninguno de estos trabajos realizados en la zona de California se ha referido al compuesto BHC, probablemente debido a que ahí se encuentran en bajos niveles de concentración de este compuesto o no fue analizado. Reportes en zonas aledañas muestran niveles bajos de este compuesto (0.5 – 2 ng/l) tanto en el agua superficial como profunda del lago Tahoe y en muestras de nieve y lluvia que son transportadas del Valle Central de California a las montañas de la Sierra Nevada (California, E.U.) y sierras sureñas del Parque Nacional de las Secuoyas (McConnell *et al.*, 1980). Las características físico-químicas únicas hacen de este compuesto un plaguicida altamente volátil, comparado con el DDT, DDE y los PCBs, los cuales son compuestos con peso molecular elevado debido a la cantidad de cloros presentes en su estructura lo que provoca una precipitación de éstos en zonas aledañas a los lugares de utilización. De manera inversa, son varios los trabajos que refieren al BHC como un compuesto en continua movilización atmosférica-oceánica encontrándose en mayores concentraciones en zonas frías donde puede precipitar más fácilmente (Shannon, 1999).

Nivel de contaminación en ballena azul

De manera general, las ballenas azules del Golfo de California mostraron niveles de Σ DDT (ND - 2833.7 ng/g lípido) y una proporción promedio del 4,4-DDE con respecto al Σ DDT (75%) comparable con los resultados de un estudio con 15 individuos de ballena azul del Golfo de California en el cual se reportan valores de Σ DDT con un rango de 59 - 4510 ng/g lípido y una proporción DDE/ Σ DDT de 71% (Valdez-Márquez, 2001). Respecto a los Σ PCBs, las concentraciones encontradas en las ballenas azules del presente estudio (ND - 83.1 ng/g lípido) fueron similar a la reportada (ND - 340 ng/g lípido) por Valdez-Márquez (2001), contrastando el promedio reportado en ballena gris (2,100 \pm 190 ng/g lípido; Krahn *et al.*, 2001) y en marsopas del puerto, *Phocoena phocoena* (1,370 ng/g lípido; O'Shea *et al.*, 1980 tomado de Aguilar *et al.*, 2002). La baja concentración encontrada en la ballena azul

puede ser atribuida a su hábito zooplanctófaga, ubicándola en un nivel trófico más bajo que la marsopa del puerto, la cual es piscívora o la ballena gris bentófaga, lugar en donde se han encontrado las mayores concentraciones de Σ PCBs debido en parte al transporte vertical vía el flujo de carbono orgánico (Froescheis *et al.*, 2000; Looser *et al.*, 2000).

Los bajos valores obtenidos en el compuesto Σ BHC en las ballenas azules del presente estudio (ND - 47 ng/g lípido) y una alta proporción de 93% del β -BHC con respecto a Σ BHC difieren de lo reportado por Valdez-Márquez (2001) con un rango (4 - 184 ng/g lípido) y una proporción del β -BHC/ Σ BHC de 58%. Asimismo en una muestra de eufáusidos reporta concentración de Σ BHC (32 ng/g lípido) con el 100% de BHC proveniente del isómero α -BHC en una mezcla de eufáusidos recolectada fuera de la costa de Baja California (Punta Colonet). Esto coincide con lo observado en grasa de ballena azul del Atlántico Norte con mayores proporciones del compuesto β -BHC contrastando con altos valores de α -BHC en eufáusidos lo que indica un mayor metabolismo en la ballena azul para transformar el α -BHC a β -BHC (Gauthier *et al.*, 1997a).

El valor máximo de Σ DDT, como se esperaba, correspondió a un macho (ID #7), y de acuerdo a su historial de avistamientos con una edad de por lo menos 18 años. Asimismo, el valor máximo de Σ PCBs se observó en el otro macho adulto (ID #12) de por lo menos 16 años según su historial de avistamientos. Estos máximos de Σ DDT y Σ PCBs encontrados en machos adultos coinciden con numerosos estudios en mamíferos terrestres y marinos que correlacionan cantidad de concentración de estos contaminantes con la edad del individuo, encontrándose en mayores concentraciones en machos adultos a diferencia de hembras lactantes y juveniles (Aguilar & Borrell, 1994; Borrell *et al.*, 1995; Weisbrod *et al.*, 2001). En cambio, el valor máximo de Σ BHC se encontró en una ballena hembra vista por primera vez en 1997.

Utilidad de los Plaguicidas y PCBs como indicadores de estructura poblacional.

En general, la mayor parte de los plaguicidas y PCBs se detectaron en bajas concentraciones comparadas con los niveles obtenidos de ballenas azules del Atlántico Norte (Gauthier *et al.*, 1997a). No obstante, cuatro compuestos (β -BHC, 4,4-DDT, 4,4-DDE y Σ PCBs) fueron críticos en la formación de grupos de ballenas azules del Golfo de California. Los compuestos 4,4-DDT y 4,4-DDE separaron el 75% de las ballenas más contaminadas del resto menos contaminado, mientras que el β -BHC y Σ PCBs separaron a las ballenas más contaminadas en dos grupos ubicándose en el grupo 1 aquellas ballenas con mayor nivel de contaminación promedio en β -BHC ($P < 0.001$) con respecto a los individuos del grupo 2 los cuales exhibieron niveles no detectables.

Los individuos conocidos que formaron el grupo 1 fueron el macho adulto (ID# 7), la hembra adulta (ID# 99, la cual no se ha observado con cría desde 1995), la hembra adulta (ID# 251, vista en 2004 probablemente con su primera cría) y dos hembras (ID# 175, ID# 303) que, si bien se desconoce si son adultas o jóvenes cercanas a su madurez sexual (entre 5 - 10 años), ninguna de ellas se han observado con cría.

Aunado al historial de avistamiento, los principales compuestos (4,4-DDT, 4,4-DDE, 2,4-DDE, 4,4-DDD y Σ PCB) excepto en β -BHC y endosulfán II, tuvieron mayores concentraciones en los machos que en las hembras coincidiendo con los patrones de acumulación y transferencia encontrados en otros mamíferos (Aguilar & Borrell, 1994; Borrell *et al.*, 1995; Weisbrod *et al.*, 2001). Además, Aguilar & Borrell (1988) concluyeron que la transferencia de contaminantes durante la lactancia es el único factor que produce estas diferencias observadas en el patrón de acumulación de contaminantes en el organismo entre adultos machos y hembras. De esta manera, a partir del conocimiento de la presencia de algunos individuos adultos encontrados en el grupo 1 y la diferenciación macho-hembra en los niveles de contaminación nos permite asumir que el grupo 1 se encuentra formado por individuos adultos.

Por otra parte, los individuos del grupo 2 con historial de avistamiento fueron la cría (biopsia 457), una hembra adulta (ID# 127, con dos períodos de lactancia cercano al año que se muestreó) y una hembra (ID# 396), la cual se desconoce su estado de madurez sexual ya que sólo ha sido vista dos veces desde 2002 y sin cría. La comparación entre sexos de este grupo no mostró diferencias significativas en ningún compuesto. Además, tanto hembras como machos de este grupo exhibieron concentraciones en 4,4-DDE, Σ DDT y Σ PCB ($P < 0.05$) mayores que las hembras adultas (hembras del grupo 1). Estos resultados coinciden con los datos obtenidos en ballenas de aleta por Aguilar & Borrell (1988) quienes observaron que los individuos jóvenes mostraron niveles de concentración mayores que las hembras adultas y no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de 4,4-DDT, 4,4-DDE, 2,4-DDE, 4,4-DDD, Σ DDT entre machos y hembras de 6 años y en Σ PCB en machos y hembras de 5 años de edad. De esta manera, los resultados del historial de avistamiento y los niveles de contaminación encontrados en los individuos del grupo 2, nos permite asumir que son individuos jóvenes o hembras adultas no-lactantes y de post concepción. En las hembras conocidas, se observó un patrón claro de contaminación por Σ DDT en función del tiempo que se ajustó a un modelo logarítmico negativo. Al parecer, los metabolitos por si solo no muestran este patrón. En ballena de aleta, este patrón ha sido reportado con una correlación negativa entre la Σ DDT con la edad y donde las concentraciones declinan bruscamente en los individuos que se reproducen activamente hasta alcanzar niveles estables (Aguilar & Borrell, 1988; Aguilar & Borrell, 1994). Así, coincidiendo con los patrones generales de transferencia de contaminantes, la mayor concentración de Σ DDT fue en la hembra más joven (#ID 471 ubicada en el grupo 2: Jóvenes) de edad mínima de 4 años mientras que el resto de las hembras (ubicadas en el grupo 1: Adultos) declinaron gradualmente su nivel de contaminación conforme aumenta la edad mínima estimada. Por otro lado, las hembras conocidas de este estudio mostraron una menor correlación con la Σ PCB y la edad mínima. En ballena de aleta, Aguilar & Borrell (1988) observaron el mismo comportamiento y se atribuyó a la menor velocidad de transferencia de este tipo de contaminantes durante la lactancia

debido principalmente por su alta lipoficidad lo cual provoca que la correlación del Σ PCB con la edad no sea tan visible (Aguilar & Borrell, 1994).

Finalmente, el β -BHC no se correlacionó con la edad mínima en las hembras. Como se mencionó anteriormente, a diferencia de las ballenas jóvenes (grupo 2) el β -BHC únicamente se encontró en niveles detectables en los individuos adultos machos y hembras (grupo 1). Este compuesto se caracteriza por ser, entre todos los compuestos estudiados, el plaguicida menos lipofílico ($\log K_{ow} = 4$) y por lo tanto tiene una mayor afinidad a los lípidos de la sangre: triglicéridos no polares, ésteres de ácidos grasos de glicerol, colesterol y lípidos más polares como los fosfolípidos (Sørmo *et al.*, 2003). De este modo, Tanabe *et al.* (1982) reportó en delfín rayado (*Stenella coeruleoalba*) que este compuesto es más fácilmente transferido de la grasa de la hembra a la cría durante la etapa gestacional, ya que el β -BHC es más afín a la membrana placentaria que el resto de los compuestos más lipofílicos. Además, Addison & Brodie (1987) reportaron que durante la etapa de lactancia los compuestos más lipofílicos y con mayor peso molecular (Σ DDT y Σ PCB) son mayormente transferidos debido a la alta afinidad de estos compuestos con los lípidos no polares de la leche.

En este contexto, el análisis de la única hembra con su cría de ballena azul en este estudio muestra un comportamiento de transferencia similar a los estudios anteriormente citados. La relación Σ DDT/ Σ PCB muestra que la cría posee una proporción mayor con respecto a la hembra, por lo que se deduce que la velocidad de transferencia del Σ DDT durante la lactancia es mayor que el Σ PCB, comportamiento que ha sido reportado también por Aguilar & Borrell (1994), Borrell *et al.* (1995) y Sørmo *et al.* (2003). Asimismo, se observa que la concentración de β -BHC aún no se hace evidente en la grasa de la cría lo cual puede ser atribuido a la menor velocidad de transferencia de este compuesto por la diferencia de afinidades con la leche altamente lipídica (Addison & Brodie, 1987). De esta manera, se deduce por qué los individuos del grupo 2 (jóvenes) aún no reflejan concentraciones detectables del β -BHC en su grasa a diferencia de los individuos del grupo 1 (adultos). Además, las ballenas muy jóvenes, a diferencia de las adultas, han estado menos expuestas a estos contaminantes, los cuales se encuentran más

concentrados en zonas de altas latitudes (Government of Canada, 1997; Aguilar *et al.*, 2002). Estos individuos jóvenes al realizar menos viajes hacia estas zonas de alimentación contaminadas de BHC por su edad tendrían menor tiempo para acumular este compuesto en la grasa.

Por otra parte, Gauthier *et al.* (1997a) determinó las concentraciones de 19 congéneres de PCB y 17 plaguicidas en cinco especies de ballenas barbadas y observó una diferencia más marcada en concentración del Σ DDT que en β -BHC entre individuos machos y hembras. Aunque en ese trabajo no se analizaron las diferencias entre sexos por especie de rorcuales, coincide con el comportamiento en los machos y hembras adultos de ballena azul del Golfo de California.

De los plaguicidas analizados en mayor frecuencia en las biopsias, sólo el endosulfán II no mostró diferencias entre sexos y grupos. Este compuesto no se reporta como un compuesto común en los trabajos sobre contaminación en cetáceos y pinnípedos.

De acuerdo a lo observado en este estudio las concentraciones de los compuestos del DDT y metabolitos, β -BHC y Σ PCBs junto con el historial de avistamiento de las ballenas azules conocidas permiten realizar una aproximación de la categoría de edad en 22 individuos analizados lo cual corresponde al 82% de la muestra total estudiada (Tabla 19).

Tabla 19. Asignación de la categoría de edad obtenida mediante el análisis de la concentración de los plaguicidas organoclorados y PCBs en las ballenas azules del Golfo de California.

ADULTOS			JÓVENES			DESCONOCIDOS		
BIOPSIA	# ID	SEXO	BIOPSIA	# ID	SEXO	BIOPSIA	# ID	SEXO
453	99	Hembra	457	Nuevo	Cría	465	-	Macho
456	451	Hembra	471	396	Hembra	475	-	Macho
459	127	Hembra	478	-	Macho	476	-	Macho
461	7	Macho	481	-	Macho	482	-	Hembra
462	303	Hembra	485 / 490	-	Macho	483	-	Hembra
463	12	Macho	487	-	Macho			
469	-	Hembra						
470	-	Macho						
472	-	Macho						
474	-	Macho						
477	-	Hembra						
479	251	Hembra						
480	-	Hembra						
484	175	Hembra						
486	-	Hembra						
488	-	Hembra						

A partir de esta información tenemos que los individuos adultos (11 hembras y 5 machos) corresponden al 59% de las biopsias analizadas, mientras que los individuos jóvenes (1 cría, 1 hembra y 4 machos) corresponden al 22% del total analizado (Figura 8).

Finalmente, es necesario mencionar que hasta la fecha no es posible estimar la categoría de edad de los mysticetos aunque se conozca parte de su vida mediante el historial de avistamientos. El presente estudio es el primer trabajo que ofrece una estimación de la categoría de edad (juvenil o adulto) de un individuo mediante la determinación de sus niveles de contaminación lo que permite de esta manera obtener un mayor conocimiento de la estructura de esta población.

n = 27 ballenas

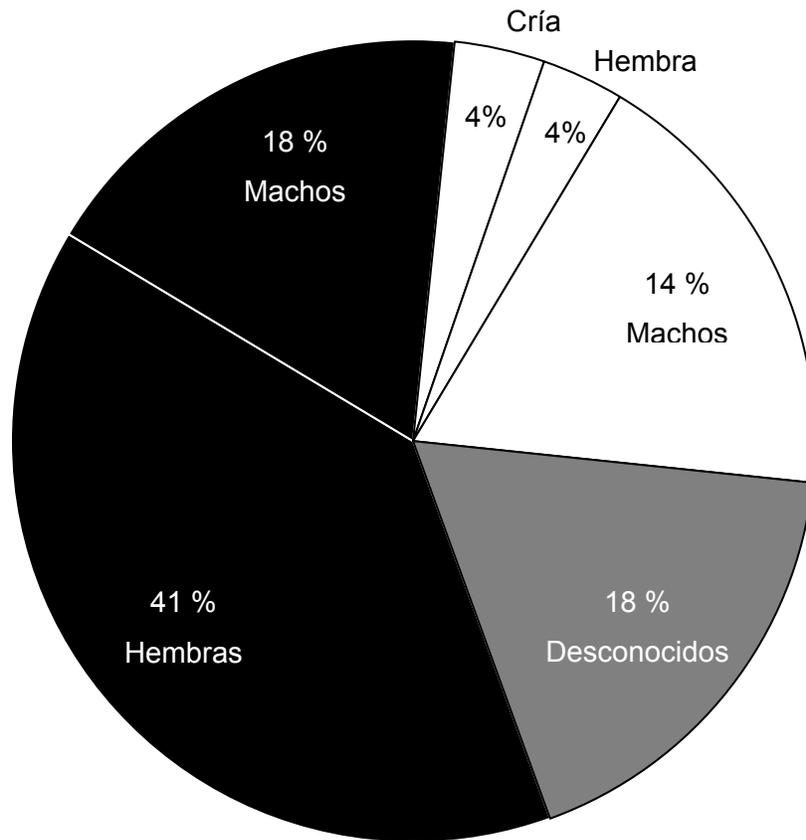
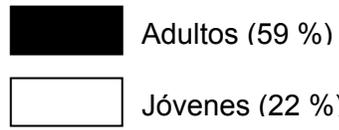


Figura 8. Representación gráfica de las categorías de edad de la ballena azul del Golfo de California en el período de febrero a mayo del 2005.

8. CONCLUSIONES

1. Los compuestos encontrados con una frecuencia mayor al 50% en las biopsias de ballena azul del Golfo de California fueron el β -BHC, 4,4-DDT, 4,4-DDE, 2,4-DDE, 4,4-DDD, Σ PCB que corresponden a los reportados en la literatura.
2. Los niveles de concentración de β -BHC, 4,4-DDT, 4,4-DDE y Σ PCB encontrados en biopsias de grasa permitieron separar a los individuos de ballena azul en jóvenes y adultos.
3. Sólo el endosulfán II no presentó utilidad para asignar una categoría de edad a las ballenas y este estudio representa el primer reporte de su comportamiento acumulativo en cetáceos.
4. Las concentraciones observadas del β -BHC, Σ DDT y Σ PCB en la biopsia de la hembra y la cría de ballena azul mostraron velocidades de transferencia que coinciden con los reportados en la literatura.
5. El patrón de acumulación y transferencia observado en la ballena azul en el presente trabajo fue similar al descrito anteriormente para odontocetos y mamíferos en general, y representa el primer reporte de este tipo realizado para misticetos de vida libre a nivel mundial.

9. RECOMENDACIONES

Para conocer aún más sobre los procesos acumulativos de estos contaminantes en las ballenas azules se recomienda realizar un estudio en su principal alimento tanto en el Golfo de California como en distintas áreas del Océano Pacífico Oriental y zonas costeras y oceánicas en California.

Para complementar este estudio, se propone realizar análisis hormonales en estas mismas biopsias así como la determinación de la longitud total de las ballenas mediante datos morfométricos para confirmar la asignación de las categorías de edad en el presente estudio y conocer más sobre la variación de los contaminantes en un rango más amplio de categorías de edad.

BIBLIOGRAFÍA

- Addison, R.F. & P.F. Brodie. 1977. Organochlorine residues in maternal blubber, milk and pup blubber from grey seals (*Halichoerus grypus*) from Sable Island, Nova Scotia. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 23:937-941.
- Addison, R.F. & P.F. Brodie. 1987. Transfer of organochlorine residues from blubber through the circulatory system to milk in the lactating seal *Halichoerus grypus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44:782-786.
- Aguilar, A. 1984. Relationship of DDE/ Σ DDT in marine mammals to the chronology of DDT input into the ecosystem. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41:840-843.
- Aguilar, A. 1985. Compartmentation and reliability of sampling procedures in organochlorine pollution surveys of cetaceans. *Residue Reviews*, 95:91-114.
- Aguilar, A. & A. Borrell. 1988. Age- and sex-related changes in organochlorine compound levels in fin whales (*Balaenoptera physalus*) from the eastern North Atlantic. *Mar. Environ. Res.*, 25:195-211.
- Aguilar, A. & A. Borrell. 1991. Heterogeneous distribution of organochlorine contaminants in the blubber of baleen whales: Implications for sampling procedures. *Mar. Environ. Res.*, 31:275-286.
- Aguilar, A. & A. Borrell. 1994. Reproductive transfer and variation of body load of organochlorine pollutants with age in fin whales (*Balaenoptera physalus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 27:546-554.
- Aguilar, A., A. Borrell & T. Pastor. 1999. Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. *J. Cetacean Res. Manag.*, (special issue 1):83-116.
- Aguilar, A., A. Borrell & P.J.H. Reijnders. 2002. Geographical and temporal variation in levels of organochlorine contaminants in marine mammals. *J. Mar. Environ. Res.*, 53:425-452.
- Arias, J.A., D. Rojas, G. Dierkmeier, C. Riera & N. Cabrera. 1990. *Plaguicidas organoclorados*. OMS. Serie Vigilancia 9., 97 p.

- Beckman, K.B., G.M. Ylitalo, R.G. Towell, M.M. Krahn, T.M. O'Hara & J.E. Blake. 1999. Factors affecting organochlorine contaminant concentrations in milk and blood of northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) dams and pups from St George Island, Alaska. *Sci. Total Environ.*, 23:183-200.
- Béland, P., S. DeGuise, C. Girard, A. Lagacé, D. Martineau, R. Michaud, D.C.G. Muir, R.J. Norstrom, É. Pelletier, S. Ray & L.R. Shugart. 1993. Toxic compounds and health and reproductive effects in St Lawrence beluga whales. *J. Great Lakes Res.*, 19(4):766-775.
- Bérubé, M. & Palsbøll. 1996. Identification of sex in cetaceans by multiplexing with three ZFX and AFY specific primers. *Mol. Ecol.* 5:283-287.
- Berrow, S.D., B. Mchugh, D. Glynn, E. MCGovern, K.M. Parsons, R.W. Baird, & S.K. Hooker, 2002. Organochlorine concentrations in resident bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Shannon estuary, Ireland. *Mar. Pollut. Bull.*, 44:1296-1313.
- Borrell, A., D. Bloch & G. Desportes. 1995. Age trends and reproductive transfer of organochlorine compounds in long-finned pilot whales from the Faroe Islands. *Environ. Pollut.*, 88:283-292.
- Borrell A., A. Aguilar, V. Tornero, M. Sequeira, G. Fernandez & S. Alis. 2006. Organochlorine compounds and stable isotopes indicate bottlenose dolphin subpopulation structure around the Iberian Peninsula. *Environ. Int.* 32:516-523.
- Calambokidis, J., G.H. Steiger, J.C. Cabbage, K.C. Balcomb, C. Ewald, S. Kruse, R. Wells & R. Sears. 1990. Sightings and movements of blue whales off Central California 1986-1988 from photoidentification of individuals. *Rep. Int. Whal. Commn. Spec. Iss.*, 12:343-348.
- Cockcroft V.G., A.C. de Kock, A.D. Lord & G.J.B. Ross. 1989. Organochlorines in bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from the east coast of South Africa. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 8:207-217.
- Connolly, J.P. & D. Glaser. 2002. *p,p'*-DDE bioaccumulation in female sea lions of the California Channel Islands. *Continental Shelf Res.*, 22:1059-1078.

- Cubero-Pardo, P., C. Ruepert, P. Forestell, F. Albertazzi, M.L. Crespo-Varela, V. Montenegro-Hidalgo, J. Rodríguez-Fonseca & P. Voogt. 1999. First evidence of persistent organochlorines in blubber samples of dolphins from the Eastern Tropical Pacific. *Rev. Biol. Tropic.*, (Supl. 6):103-110.
- Debier, C., P.P. Pomeroy, C. Dupont, C. Joiris, V. Comblin, E. Boulengé & J.P. Thomé. 2003. Quantitative dynamics of PCB transfer from mother to pup during lactation in UK grey seals *Halichoerus grypus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 247:237-248.
- Del Ángel-Rodríguez, J. 1997. *Hábitos alimentarios y distribución espacio-temporal de los rorcuales comunes (Balaenoptera physalus) y azul (Balaenoptera musculus) en la Bahía de La Paz, B.C.S., México*. M.S. Tesis, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B.C.S., 68 p.
- Evans, K., M. Hindell & G. Hince. 2004. Concentrations of organochlorines in sperm whales (*Physeter macrocephalus*) from Southern Australian waters. *Mar. Pollut. Bull.*, 48:486-503.
- Fiedler, P.A., S.B. Reilly, R.P. Hewitt, D. Demer, V.A. Philbrick, S. Smith, W. Armstrong, D.A. Croll, B.R. Terchy & B.R. Mate. 1998. Blue whale habitat and prey in the California Channel Islands. *Deep-Sea Res. II* 45:1781-1801.
- Folch, J., M. Less & G.H.S. Stanley. 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509.
- Forney, K.A., J. Barlow, M.M. Muto, M. Lowry, J. Baker, G. Cameron, J. Mobley, C. Stinchcomb & J. Carretta. 2000. U.S. Pacific marine mammal stock assessments: 2000. NOAA-TM-NMFS-SWFSC-300 *Report, Southwest Fishery Science Center, National Marine Fisheries Service*.
- Froescheis, O., R. Looser, G.M. Cailliet, W.M. Jarman & K. Ballschmiter. 2000. The deep-sea as a final global sink of semivolatile persistent organic pollutants? Part I: PCBs in surface and deep-sea dwelling fish of the North and South Atlantic and the Monterrey Bay Canyon (California). *Chemosphere.*, 40:651-660.
- Gaskin, D.E. 1982. *The ecology of whales and dolphins*. Heinemann Ed. London. 549 p.

- Gauthier, J.M., C.D. Metcalfe & R. Sears. 1997a. Chlorinated organic contaminants in blubber biopsies from northwestern Atlantic balaenopterid whales summering in the Gulf of St Lawrence. *Mar. Environ. Res.*, 44(2):201-223.
- Gauthier, J.M., C.D. Metcalfe & R. Sears. 1997b. Validation of the blubber biopsy technique for monitoring of organochlorine contaminants in balaenopterid whales. *Mar. Environ. Res.*, 43(3):157-179.
- Gendron, D. 1990. *Relación entre la abundancia de eufaúsidos y de ballenas azules (Balaenoptera musculus) en el Golfo de California*. M.S. Tesis, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B.C.S., México, 64 p.
- Gendron, D. 2002. *Ecología poblacional de la ballena azul, Balaenoptera musculus de la Península de Baja California*. Tesis de doctorado, CICESE, Ensenada, B.C., México, 112 p.
- Gleit, A. 1985. Estimation for small normal data sets with detection limits. *Environ. Sci. Technol.*, 19(12):1201-1206.
- Gobas, F.A., J.B. Wilcockson, R.W. Russell & G.D. Haffner. 1999. Mechanisms of biomagnification in fish under laboratory and field conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 33(1):133-141.
- Government of Canada. 1997. *Canadian Arctic contaminants assessment report (CACAR) New Release*. 1-9709. Ottawa, Ontario.
- Hayteas, D.L & D.A. Duffield. 2000. High levels of PCB and *p,p'*- DDE found in the blubber of killer whales (*Orcinus orca*). *Mar. Pollut. Bull.*, 40(6)558-561.
- Helsel, D.R. 1990. Less than obvious: Statistical treatment of data below the detection limit. *Environ. Sci. Technol.*, 24(12):1767-1774.
- Holden, A.V. & K. Marsden. 1967. Organochlorine pesticides in seals and porpoises. *Nature.*, 216:1274-1276.
- International Whaling Commission. 1966. Schedule to the International Whaling Convention, 1946, revised to include the amendments that came into operation after the Seventeenth Meeting in London, 1965. *International Whaling Commission*.
- Krahn, M.M., G.M. Ylitalo, D.G. Burrows, J. Calambokidis, S.E. Moore, G. Merrill, P. Gearin, P.D. Plesha, R.L. Brownell, S.A. Blokhin, K.L. Tilbury, T. Rowles & J.

- Stein. 2001. Organochlorine contaminant concentration and lipid profiles in eastern North Pacific gray whales (*Eschrichtius robustus*). *J. Cetacean Res. Manag.*, 3(1):19-29.
- Krahn, M.M., G.M. Ylitalo, J.E. Stein, A. Aguilar & A. Borrell. 2003. Organochlorine contaminants in cetaceans: how to facilitate interpretation and avoid errors when comparing datasets. *J. Cetacean Res. Manag.* 5(2):103-113.
- Lockyer, C. 1984. Review of baleen whale (Mysticeti) reproduction and implications for management. *Rep. Int. Whale. Commn.*, (special issue 6):27-50.
- Looser, R., O. Froescheis, G.M. Cailliet, W.M. Jarman & K. Ballschmiter. 2000. The deep-sea as a final global sink of semivolatile persistent organic pollutants? Part II: organochlorine pesticides in surface and deep-sea dwelling fish of the North and South Atlantic and the Monterey Bay Canyon (California). *Chemosphere*, 40:661-670.
- Lydersen, C. & K.M. Kovacs. 1999. Behaviour and energetics of icebreeding, North Atlantic phocid seals during the lactation period. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 187:265-281.
- Manly, B.F.J. 1986. *Multivariate statistical methods*. 2nd Edition. Chapman & Hall, London, 215 p.
- Marine Mammal Commission. 1999. *Marine Mammals and Persistent Ocean Contaminants: Proceedings of the Mammal Commission Workshop*, Keystone, Colorado, 12-15 October, 1998. 150 p + vii.
- Marsh, B.J. & B.D. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lipid Res.*, 7:574-576.
- McConnell, L.L., J.S. LeNoir & S.S. Datta. 1980. Wet deposition of current-use pesticides in the Sierra Nevada mountain range, California, USA. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17(10):1908-1916.
- Nemoto, T. 1957. Foods of Baleen whales in the northern Pacific. *Scientific reports of the whales research*. Tokyo, 12:33-89
- OMS/OPS, 1993. *Plaguicidas y salud en las Américas*. OMS. USA. 95 p.

- O'Shea, T.J. & A. Aguilar. 2001. Cetacea and Sirenia. En: *Ecotoxicology of wild mammals*. R.F. Shore & B.A. Rattner (Eds.). John Wiley & Sons., USA. 427-496 p.
- O'Shea, T.J., R.L. Brownell, D.R. Clark Jr, W.M. Walker & T.G. Lamont. 1980. Organochlorine pollutants in small cetaceans from the Pacific and South Atlantic oceans, November 1968-June 1976. *Pestic. Monit. J.*, 14:35-46.
- O'Shea, T.J. & R.L. Brownell Jr. 1994. Organochlorine and metal contaminants in baleen whales: a review and evaluation of conservation implications. *Sci. Total Environ.*, 154:179-200.
- Reeves, R.R., P.J. Clapham, R.L. Brownell Jr. & G.K. Silber. 1998. Recovery plan for the blue whale (*Balaenoptera musculus*). National Marine Fisheries Service., Silver Spring, MD. 42 p.
- Rice, D.W. 1974. Whales and whale research in the Eastern North Pacific. En: *The whale problem: A status report*. Shevill, W.F. (Eds.). Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass. 170-195 p.
- Schafer, H.A., R.W. Gossett, C.F. Ward & A.M. Westcott. 1984. Chlorinated hydrocarbons in marine mammals. In: *Southern California Coastal Water Research Project Biennial Report, 1983-1984*. W. Bascom (Eds.). Southern California Coastal Water Research Project, Long Beach, CA, 109-114 p.
- Shannon, M.B. 1999. Global transport of anthropogenic contaminants and the consequences for the arctic marine ecosystem. *Mar. Pollut. Bull.*, 38(5):356-379.
- Yochem, P.K. & S. Leatherwood. 1985. Blue whale *Balaenoptera musculus* (Linnaeus, 1758). En: *Handbook of Marine Mammals Vol. 3, The sirenianns and baleen whales*. Ridway & Harrison (Eds.). Academic Press Inc. 193-240 p.
- Ross, P.S. 2006. Fireproof killer whales (*Orcinus orca*): flame-retardant chemicals and the conservation imperative in the charismatic icon of British Columbia, Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 63:224-234.

- Safe S. 1994. Polychlorinated biphenyls (PCBs): Environmental Impact, biochemical and toxic responses and implications for risk assessment. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 24, 87-149.
- Schantz, M.M., R.M. Parris, J. Kurz, K. Ballschmiter & S.A. Wise. 1993. Comparison of methods for the gas-chromatographic determination of PCB congeners and chlorinated pesticides in marine reference materials. *Fresen. J. Anal. Chem.*, (346):766-778.
- Schantz, M.M., B.J. Koster, L.M. Oakley, S.B. Schiller & S.A. Wise. 1995. Certification of polychlorinated biphenyl congeners and chlorinated pesticides in a whale blubber standard reference material. *Anal. Chem.*, 67(5):901-910.
- Schiff, K.C., M.J. Allen, E.Y. Zeng & S.M. Bay. 2000. Southern California. *Mar. Pollut. Bull.* 41(1-6):76-93.
- Shannon, M.B. 1999. Global transport of anthropogenic contaminants and the consequences for the arctic marine ecosystem. *Mar. Pollut. Bull.*, 38(5):356-379.
- Small, G.L. 1971. *The blue whale*. Columbia University Press. New York. 248 p.
- Sørmo, E.G., J.U. Skaare, C. Lydersen, K.M. Kovacs, M.O. Hammill & B.M. Jenssen. 2003. Partitioning of persistent organic pollutants in grey seal (*Halichoerus grypus*) mother-pup pairs. *Total Environ.*, 302:145-155.
- Tanabe, S., R. Tatsukawa, K. Maruyama & N. Miyazaki. 1982. Transplacental transfer of PCBs and chlorinated pesticides from the pregnant striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) to her fetus. *Agr. Biol. Chem.*, 46:1249-1254.
- Tanabe, S., B.G. Loganathan, A. Subramanian & R. Tatsukawa. 1987. Organochlorine residues in short-finned pilot whale: Possible use as tracers of biological parameters. *Mar. Pollut. Bull.*, 18(10) :561-563.
- UNEP/ POPS/ INC.1/ Inf.10. 1998. *Preparación de un instrumento internacional jurídicamente vinculante para la aplicación de medidas internacionales respecto de ciertos contaminantes orgánicos persistentes*. O.N.U., Montreal, 1-43.

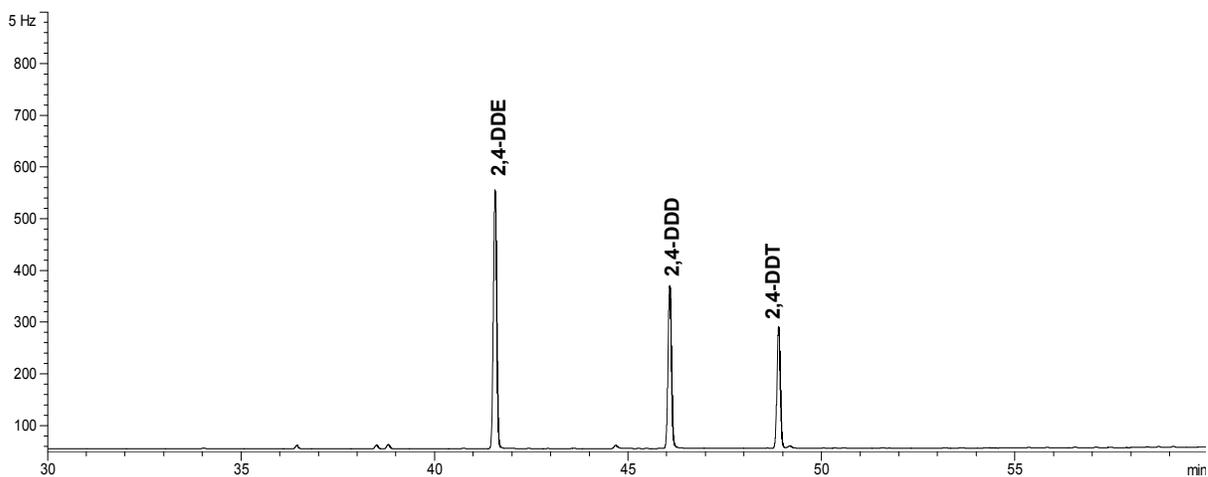
- Valdez-Márquez, M. 2001. *Determinación de hidrocarburos clorados en ballena azul Balaenoptera musculus y eufáusidos del Pacífico Mexicano*. Tesis de maestría, CICESE, Ensenada, B.C., México, 83 p.
- Weisbrod, A.V., D. Shea, M.J. Moore & J.J. Stegeman. 2001. Species, tissue and gender-related organochlorine bioaccumulation in white-sided dolphins, pilot whales and their common prey in the Northwest Atlantic. *Mar. Environ. Res.*, 51:29-51.
- Wurl, O. & J.P. Obrad. 2004. A review of pollutants in the sea-surface microlayer (SML): a unique hábitat for marine organisms. *Mar. Pollut. Bull.*, 48(2004):1016-1030.
- Yochem, P.K. & S. Leatherwood. 1985. Blue whale *Balaenoptera musculus* (Linnaeus, 1758). En: *Handbook of Marine Mammals Vol. 3, The sirenianns and baleen whales*. Ridway & Harrison (Eds.). Academic Press Inc. 193-240 p.
- Zeng E.Y. & C.L. Vista. 1997. Organic pollutants in the coastal environment off San Diego, California. 1. Source identification and assessment by compositional indices of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Toxicol. Chem.* 16(2):179-188.

ANEXOS

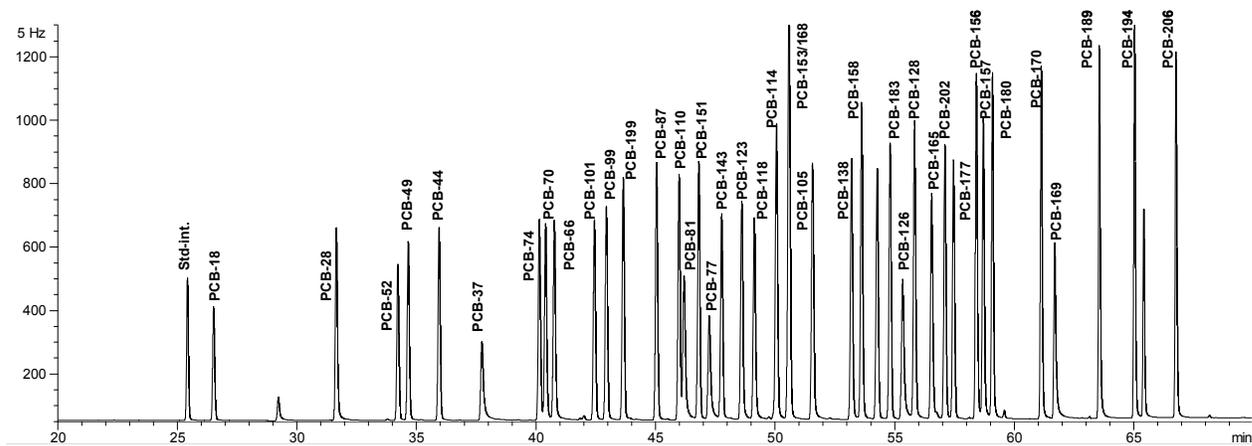
Anexo I. Localización geográfica durante la obtención de las biopsias de las ballenas azules del Golfo de California.

BIOPSIA	FECHA	LATITUD	LONGITUD
453	04/02/2005	25°N 76	111°W 21
456	23/02/2005	25°N 72	111°W 18
457	24/02/2005	25°N 72	111°W 18
459	25/02/2005	25°N 67	111°W 15
461	26/02/2005	25°N 63	111°W 08
462	26/02/2005	25°N 63	111°W 08
463	26/02/2005	25°N 63	111°W 08
465	13/03/2005	30°N 84	114°W 10
469	13/03/2005	30°N 88	114°W 11
470	13/03/2005	30°N 88	114°W 11
471	17/03/2005	29°N 92	113°W 43
472	18/03/2005	29°N 91	113°W 29
474	18/03/2005	29°N 84	113°W 29
475	18/03/2005	29°N 86	113°W 30
476	18/03/2005	29°N 87	113°W 30
477	18/03/2005	29°N 95	113°W 39
478	18/03/2005	29°N 95	113°W 39
479	20/03/2005	27°N 90	112°W 36
480	20/03/2005	27°N 72	112°W 33
481	20/03/2005	27°N 64	112°W 33
482	07/04/2005	24°N 54	108°W 94
483	13/04/2005	25°N 66	110°W 46
484	14/04/2005	25°N 94	110°W 46
485	14/04/2005	25°N 95	110°W 44
486	14/04/2005	25°N 96	110°W 44
487	14/04/2005	25°N 95	110°W 44
488	14/04/2005	25°N 91	110°W 42
490	14/04/2005	25°N 89	110°W 45

Anexo II. Cromatogramas del material de referencia de plaguicidas y PCB utilizados para la identificación de los picos.



Cromatograma de la mezcla con 3 congéneres de plaguicidas empleado como referencia para la identificación y cuantificación de los picos.



Cromatograma de la mezcla con 41 PCBs empleado como referencia para la identificación y cuantificación de los picos.

Anexo III. Estimación de datos no detectados.

Las concentraciones de contaminación en muestras biológicas (grasa, piel, etc) y/o ambientales (sedimentos, agua, etc) se caracterizan por encontrarse en cantidades tan pequeñas que no pueden ser detectadas por las técnicas de cuantificación más comúnmente usadas en el laboratorio, reportándose en esas muestras como niveles “No Detectables” (NDs). Entre los actuales procedimientos que existen para asignar un valor específico a los NDs se encuentran los siguientes:

- 1) Sustitución de los valores ND por cero (ND= 0)
- 2) Sustitución de los valores ND por la mitad del Límite Mínimo de Detección (ND=LOD/2)
- 3) Sustitución de los valores ND por el Límite Mínimo de Detección (ND= LOD)
- 4) Estimaciones de máxima probabilidad (Gleit, 1985; Helsel, 1990).

En este trabajo se realizó la sustitución de los valores ND por una fracción equitativa del Límite Mínimo de Detección de acuerdo a la cantidad de ND (ND= LOD/ #ND) y se probó estadísticamente al igual que los otros métodos.

Para probar cuál de estos métodos es el más adecuado y de este modo poder realizar análisis estadísticos robustos y que sean capaces de reflejar un comportamiento semejante a la naturaleza se analizaron las medidas de tendencia central: media, moda y desviación estándar así como las medidas alternativas más confiables para datos sesgados de este tipo: mediana y rango intercuartil. La variable utilizada fue el α -clordano tomándose de referencia los valores reportados por Valdez-Márquez (2001) para ballenas azules en el Golfo de California (Tabla 20 y 21).

Tabla 20. Concentración de α -clordano (ng/g lípido) de las ballenas azules del Golfo de California (tomado de Valdez-Márquez, 2001).

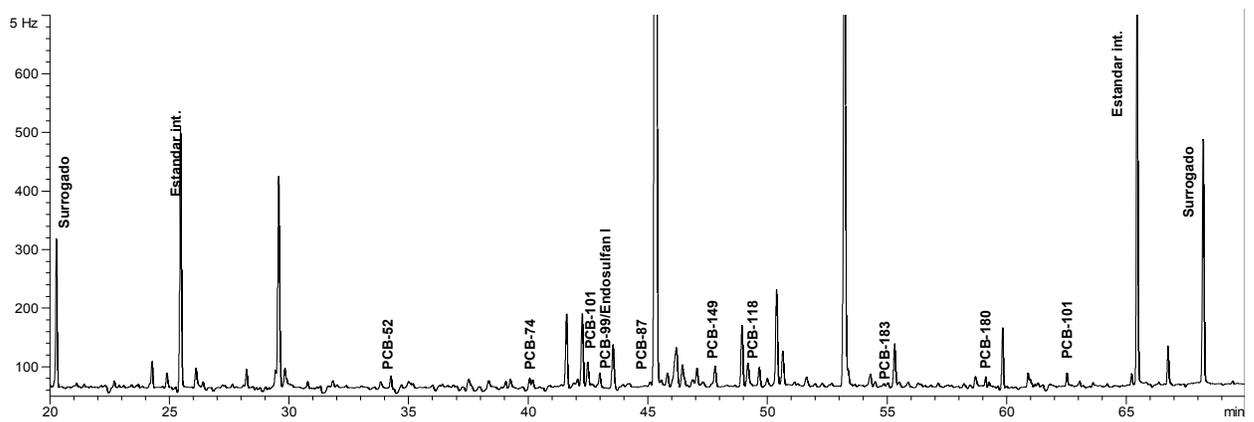
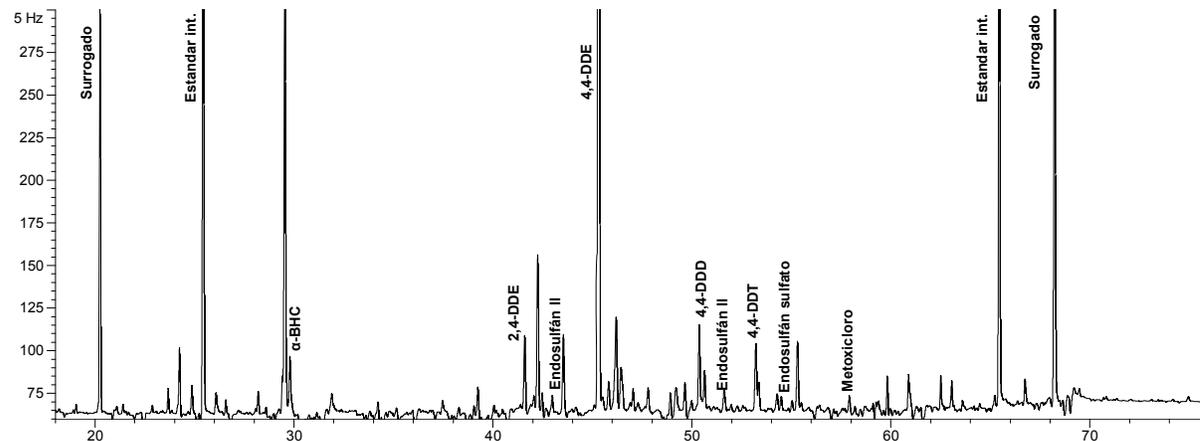
# biopsia	α -clordano
173	nd
142	nd
250	nd
278	nd
113	nd
124	4
1	6
271	10
287	10
116	22
290	22
267	35
282	36
289	40
288	42

Tabla 21. Análisis de medidas de tendencia central en los diferentes procedimientos de sustitución de valores no detectados (NDs).

	cero	LOD/2	LOD	máxima probabilidad	LOD/#NDs
Sustitución	0	1.75	3.5	0.09	0.7
	0	1.75	3.5	0.55	1.4
	0	1.75	3.5	1.73	2.1
	0	1.75	3.5	2.75	2.8
	0	1.75	3.5	3.46	3.5
Datos reportados	4	4	4	4	4
	6	6	6	6	6
	10	10	10	10	10
	10	10	10	10	10
	22	22	22	22	22
	22	22	22	22	22
	35	35	35	35	35
	36	36	36	36	36
	40	40	40	40	40
	42	42	42	42	42
media	15.13	15.72	16.30	15.71	15.83
moda	0.00	1.75	3.50	10.00	10.00
desv. Estand.	16.19	15.62	15.07	15.65	15.52
mediana	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
25% perce.	0.00	1.75	3.50	2.93	2.93
75% perce.	31.75	31.75	31.75	31.75	31.75
Rango intercuart.	31.75	30.00	28.25	28.82	28.82

Los tres primeros métodos tanto la media, la moda y desviación estándar son sensibles a la sustitución por cero, la mitad del LOD y el LOD (Tabla 20). En las medidas de tendencia central alternativas la mediana no se ve alterada, sin embargo en los valores del rango intercuartil difieren notablemente. En los últimos dos métodos (máxima probabilidad y LOD/#NDs) se muestran valores constantes tanto de la media, moda y desviación estándar como en la mediana y el rango intercuartil. Debido a la robustez mostrada y la facilidad para procesar los datos mediante el método de LOD/#NDs se eligió este último para emplearlo en los datos de las ballenas azules con biopsias de grasa en 2005.

Anexo IV. Cromatogramas de la identificación de plaguicidas y PCB en dos biopsias de grasa de ballenas azules del presente estudio.



Anexo V. Porcentaje de recuperación por muestra de grasa de ballena azul del Golfo de California.

Porcentaje de recuperación		
Biopsia	Estándar bajo	Estándar alto
	(%)	(%)
453	72	86
456	87	90
457	107	91
459	87	83
461	77	81
462	83	90
463	90	85
465	59	83
469	78	86
470	58	82
471	84	85
472	67	88
474	92	84
475	62	86
476	75	74
477	98	86
478	67	90
479	111	92
480	80	81
481	50	70
482	96	88
483	72	81
484	25	46
485	84	90
486	55	95
487	45	88
488	69	94
490	81	92
promedio	75	85

Anexo VI. Concentración de plaguicidas organoclorados (ng/g tejido) en grasa de las ballenas azules del Golfo de California (ND= valor no detectado).

	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	2,4 DDT	4,4 DDT	2,4 DDE	4,4 DDE	2,4 DDD	4,4 DDD
# Biopsia										
453	ND	3.9	0.5	ND	ND	16.0	ND	86	ND	ND
456	ND	4.8	2.1	ND	ND	13.6	ND	ND	ND	ND
457	ND	ND	ND	ND	ND	54.9	ND	92.7	ND	ND
459	ND	ND	0.9	ND	ND	26.5	7.6	149.4	ND	ND
461	ND	43.9	ND	ND	ND	90.8	20.7	585.0	ND	76.1
462	ND	19.8	ND	ND	ND	21.6	10.4	224.2	ND	17.9
463	ND	44.1	ND	ND	ND	ND	ND	534.7	ND	87.1
465	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.2	70.2	ND	6.4
469	ND	26.3	2.0	ND	ND	33.4	ND	241.3	ND	ND
470	ND	17.1	ND	ND	ND	242.7	19.9	367.8	ND	39.9
471	ND	ND	ND	ND	ND	168.9	9.6	242.0	ND	28.1
472	ND	7.2	ND	ND	ND	149.4	6.0	144.4	ND	ND
474	ND	38.7	2.0	ND	ND	268.5	22.2	348.8	5.0	42.6
475	ND	1.4	ND	ND	ND	2.1	ND	250.5	ND	ND
476	ND	ND	ND	ND	ND	0.2	ND	ND	ND	ND
477	ND	10.9	2.2	ND	ND	16	12.1	188.4	ND	13.5
478	ND	ND	ND	ND	ND	24	12.1	226.7	ND	27.3
479	ND	20.7	ND	ND	ND	28	12.3	275.2	ND	23.0
480	ND	16.2	5.1	ND	ND	11.3	8.6	106.7	ND	8.9
481	ND	ND	ND	ND	ND	2.9	ND	396.4	ND	ND
482	ND	ND	2.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
483	ND	38.4	1.3	ND	ND	ND	ND	48.0	ND	5.8
484	ND	47.0	ND	ND	ND	16.4	ND	80.9	ND	12.2
485	ND	ND	3.2	ND	ND	24.1	12.2	251.5	ND	20.5
486	ND	34.7	ND	ND	ND	19.8	11.3	165.8	ND	20.0
487	ND	ND	ND	ND	ND	18.7	11.1	189.5	ND	ND
488	ND	21.0	ND	ND	ND	15.6	8.1	144.8	ND	ND
490	ND	ND	2.3	ND	ND	30.1	ND	325.7	ND	ND

Continuación Anexo VI...

	Heptacloro	Heptacloro epóxido	Endosulfán I ***	Endosulfán II	Endosulfán sulfato	Aldrin	Dieldrin	Endrin	Endrin aldehído	Metoxicloro
# Biopsia										
453	N.D.	N.D.	1.0	2.2	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
456	N.D.	N.D.	N.D.	1.8	6.7	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
457	N.D.	N.D.	1.1	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
459	N.D.	N.D.	1.6	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	1.6	N.D.
461	N.D.	5.1	7.5	2.7	N.D.	ND	ND	ND	2.9	2.0
462	N.D.	N.D.	2.5	2.5	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
463	N.D.	4.2	N.D.	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
465	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
469	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	9.1	ND	ND	ND	1.5	N.D.
470	N.D.	2.2	4.3	3.1	N.D.	ND	ND	ND	2.7	N.D.
471	N.D.	3.3	2.4	2.8	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
472	N.D.	N.D.	1.3	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
474	N.D.	N.D.	4.0	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	3.4	N.D.
475	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
476	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
477	N.D.	N.D.	2.1	2.4	N.D.	ND	ND	ND	1.6	N.D.
478	N.D.	N.D.	2.9	3.8	N.D.	ND	ND	ND	3.3	N.D.
479	N.D.	N.D.	4.3	2.5	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
480	N.D.	N.D.	2.7	2.0	7.0	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
481	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
482	N.D.	1.8	N.D.	1.5	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
483	N.D.	3.0	N.D.	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
484	N.D.	N.D.	N.D.	1.1	6.2	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
485	N.D.	N.D.	3.5	2.9	10.3	ND	ND	ND	N.D.	N.D.
486	N.D.	N.D.	3.7	3.7	12.7	ND	ND	ND	N.D.	6.6
487	N.D.	N.D.	4.4	2.1	7.5	ND	ND	ND	1.7	2.8
488	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	9.2	ND	ND	ND	2.3	3.3
490	N.D.	N.D.	4.9	N.D.	N.D.	ND	ND	ND	3.0	3.4

Anexo VII. Concentración de bifenilos policlorados (ng/g tejido) en grasa de las ballenas azules del Golfo de California (ND= valor no detectado).

	PCB 18	PCB 28	PCB 52	PCB 49	PCB 44	PCB 37	PCB 74	PCB 70	PCB 66	PCB 101	PCB 99**	PCB 119	PCB 87	PCB 110	PCB 81	PCB 151	PCB 77	PCB 149	PCB 123	PCB 118	
# Biopsia																					
453	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	2.1	
456	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.3
457	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.8	N.D.	N.D.	N.D.	0.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.5
459	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	N.D.	2.6
461	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.0	N.D.	N.D.	4.1	5.0	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	7.1	N.D.	7.0
462	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.0	3.0	N.D.	N.D.	3.6
463	N.D.	N.D.	5.4	N.D.	N.D.	N.D.	2.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	8.4	N.D.	8.0
465	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
469	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.2	N.D.	N.D.	N.D.	3.5
470	N.D.	N.D.	3.0	N.D.	1.4	N.D.	2.2	N.D.	N.D.	4.8	2.7	N.D.	0.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4.5	N.D.	5.7
471	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.5	N.D.	N.D.	1.7	1.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.4	3.6	N.D.	N.D.	4.4
472	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
474	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.9	N.D.	N.D.	N.D.	6.4
475	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.5	3.2	N.D.	N.D.	N.D.	4.5
476	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.0
477	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.7	1.2	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	N.D.	1.3	2.8	N.D.	N.D.	3.5
478	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	8.9
479	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.5	N.D.	N.D.	N.D.	2.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.9	N.D.	5.2
480	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.6	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.9	N.D.	N.D.
481	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.5	2.4	N.D.	N.D.	N.D.	6.5
482	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	10.5	4.2	N.D.	N.D.	N.D.
483	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.4	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	N.D.	N.D.	4.0	2.6	N.D.	N.D.	N.D.
484	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
485	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4.6
486	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.4	N.D.	N.D.	N.D.	2.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
487	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.7	N.D.	N.D.	N.D.	3.5
488	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.1	1.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.2	N.D.	N.D.	N.D.	3.5
490	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.8	3.2	N.D.	N.D.	N.D.	6.3

Continuación Anexo VII...

	PCB 114	PCB 168/153	PCB 105	PCB 138	PCB 158	PCB 187	PCB 183	PCB 126	PCB 128	PCB 167	PCB 202	PCB 177	PCB 156	PCB 157	PCB 180	PCB 170	PCB 169	PCB 189	PCB 194	PCB 206
# Biopsia																				
453	N.D.	1.3	N.D.	0.3	N.D.	N.D.														
456	N.D.	0.9	N.D.	0.1	N.D.	N.D.														
457	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	5.2	N.D.	N.D.	N.D.	0.4	N.D.	N.D.
459	N.D.	2.1	1.8	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	0.5	0.1	N.D.								
461	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.3	0.8	N.D.	N.D.	N.D.	2.7	0.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
462	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.4	N.D.										
463	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.0	0.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
465	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
469	N.D.	2.1	2.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.1	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	0.3	N.D.	N.D.
470	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.7	N.D.	1.3	0.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
471	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
472	N.D.	N.D.	1.1	N.D.	0.6	N.D.														
474	N.D.	4.1	2.6	N.D.	0.9	N.D.	1.7	0.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.								
475	N.D.	3.1	2.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.1	N.D.	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	0.4	N.D.	0.5	N.D.	N.D.
476	N.D.	1.4	3.1	N.D.																
477	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.6	N.D.	0.7	N.D.	0.1									
478	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.6	N.D.	N.D.
479	N.D.	2.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	0.4	N.D.	0.8	N.D.	N.D.
480	N.D.	1.2	N.D.	0.5	N.D.	N.D.														
481	N.D.	4.4	2.6	N.D.	0.6	N.D.	0.4	N.D.	N.D.											
482	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.3	2.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	1.2	0.2	N.D.	0.4	N.D.	N.D.
483	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.2	N.D.						
484	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	0.4	1.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
485	N.D.	2.5	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.									
486	N.D.	1.9	N.D.																	
487	N.D.	2.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.6	N.D.	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.4	N.D.	N.D.
488	N.D.	2.3	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.4	N.D.	N.D.									
490	N.D.	3.7	2.6	N.D.	1.2	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	0.0	N.D.	N.D.								

Anexo VIII. Porcentaje de lípidos totales en grasa de las ballenas azules del Golfo de California.

# Biopsia	peso biopsia (mg)	Porcentaje de lípidos (%)
453	259	30.1
456	213	54.0
457	295	39.3
459	319	34.2
461	292	27.3
462	196	37.0
463	239	33.6
465	107	19.5
469	268	43.5
470	283	32.0
471	242	31.1
472	260	34.4
474	289	41.3
475	250	55.0

# Biopsia	peso biopsia (mg)	Porcentaje de lípidos (%)
476	156	45.3
477	273	36.5
478	146	29.8
479	283	42.5
480	256	34.0
481	256	34.2
482	369	42.2
483	251	42.2
484	227	31.8
485	221	26.5
486	227	38.3
487	271	42.0
488	300	41.1
490	212	33.5

Anexo IX. Límites de detección reportados para cada compuesto analizado (expresados en ng/g tejido).

Plaguicidas	LOD
α-BHC	0.003
β-BHC	0.005
γ-BHC	0.003
δ-BHC	0.003
2,4-DDT	0.007
4,4-DDT	0.007
2,4-DDE	0.005
4,4-DDE	0.004
2,4-DDD	0.007
4,4-DDD	0.007
Heptacloro	0.003
Heptacloro epóxido	0.003
Endosulfán I**	0.005
Endosulfán II	0.005
Endosulfán sulfato	0.018
Aldrin	0.003
Dieldrin	0.005
Endrin	0.006
Endrin aldehído	0.011
Metoxicloro	0.005

PCBs	LOD
PCB-18	0.006
PCB-28	0.004
PCB-52	0.004
PCB-49	0.004
PCB-44	0.004
PCB-37	0.009
PCB-74	0.005
PCB-70	0.005
PCB-66	0.005
PCB-101	0.005
PCB-99**	0.004
PCB-119	0.004
PCB-87	0.004
PCB-110	0.004
PCB-81	0.006
PCB-151	0.004
PCB-77	0.008
PCB-149	0.004
PCB-123	0.004
PCB-118	0.004
PCB-114	0.003
PCB-168/153	0.002
PCB-105	0.004
PCB-138	0.004
PCB-158	0.003
PCB-187	0.004
PCB-183	0.003
PCB-126	0.007
PCB-128	0.003
PCB-167	0.004
PCB-202	0.004
PCB-177	0.004
PCB-156	0.002
PCB-157	0.002
PCB-180	0.002
PCB-170	0.002
PCB-169	0.004
PCB-189	0.002
PCB-194	0.002
PCB-206	0.002