

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

“DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS CLORADOS EN TEJIDO ADIPOSO SUBCUTÁNEO DE LOBOS MARINOS DE CALIFORNIA (*Zalophus californianus californianus*) VARADOS MUERTOS A LO LARGO DE LA BAHÍA DE TODOS SANTOS, BAJA CALIFORNIA”

Tesis que presenta:

LIGEIA DEL TORO MUÑOZ

APROBADA POR:



Dra. Gisela Heckel Dziendzielewski

Directora



Dr. Víctor Froylán Camacho Íbar

Sinodal propietario



Dr. Jorge de la Rosa Vélez

Sinodal propietario

RESUMEN

Con el fin de evaluar los niveles de contaminación por hidrocarburos clorados en el hábitat del lobo marino de California (*Zalophus californianus californianus*), se determinaron concentraciones de estos compuestos en muestras de tejido adiposo subcutáneo de 18 lobos marinos de California, varados muertos durante enero de 2000 a noviembre de 2001, a lo largo de la Bahía de Todos Santos, Baja California.

La identificación y cuantificación de los compuestos se llevó a cabo por medio de una calibración con mezclas de estándares de pesticidas y BPCs. Se utilizó un cromatógrafo de gases de alta resolución con una columna capilar no polar DB-XLB de 60 m de longitud, 0.25 mm de diámetro y 0.25 μm de grosor de película y un detector de captura de electrones ^{63}Ni . Como gas acarreador se utilizó helio y nitrógeno como gas compensador.

Sólo 13 de las 18 muestras analizadas presentaron correlaciones significativas en cuanto a su contenido de pesticidas ($r^2 > 0.7$) y bifenilos policlorados ($r^2 > 0.85$). En dichas muestras las concentraciones medias de ΣDDT (3.8 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico) fueron las más altas, seguidas por ΣBPCs (2.9 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico), ciclodienos clordanos: ΣCHls (0.4 $\mu\text{g/g}$ de lípidos) y ΣHCH (0.06 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico). El valor de la razón BPCs/DDE obtenido fue 0.86. Estos resultados se compararon con los reportados anteriormente sobre la misma especie y otros mamíferos marinos del mundo. En general, se encontraron niveles de contaminación por pesticidas menores a los de trabajos anteriores realizados en Estados Unidos con lobo marino de California, pero similares en cuanto a BPCs. Las proporciones de los contaminantes fueron semejantes a las reportadas en otros trabajos sobre diversas especies de mamíferos marinos en el mundo.

DEDICATORIA

A mi papá, por todo el amor, el apoyo y el impulso que me ha dado desde el principio.

A mi mamá, porque además de ser una excelente mamá, es mi gran amiga. Con su ayuda y comprensión todo es más fácil.

A mis hermanas, Moria y Ana porque son el regalo más valioso que me ha dado la vida.

A mis abuelos por ser fuente de inspiración y admiración.

A mi familia.

A mis amigos.

A ICMME por enseñarme que con ganas se puede alcanzar lo que quieras y por darme tantas oportunidades de crecer y trabajar.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis y miembros del comité:

Dra. Gisela Heckel, por confiar en mí desde el principio y por enseñarme con el ejemplo como hacer una investigación científica, desde idear un proyecto hasta tenerle devoción y paciencia. También por su amistad y por la ayuda en la consecución de fondos y en cada paso de la investigación.

Dr. Víctor Camacho, por su apoyo imprescindible en el laboratorio, el tiempo y la paciencia invertidos, y por ampliar mi panorama sobre un estudio de contaminación en cada etapa de la tesis.

Las sugerencias por parte del Dr. Jorge de la Rosa me ayudaron a enlazar un capítulo con otro, a puntualizar la importancia del trabajo y a mejorar el resultado final.

A las instituciones:

Universidad Autónoma de Baja California - Facultad de Ciencias Marinas (UABC-FCM) por la formación recibida durante los últimos años.

Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO), por permitir el uso de sus instalaciones y equipo de laboratorio.

La recolecta de muestras contó con apoyo financiero del Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza, A.C. (FMCN), y los reactivos para el análisis de laboratorio fueron adquiridos con fondos de la Comisión para la Cooperación Ambiental de América del Norte (CCA) y de la Society for Marine Mammalogy (E.U.A.) (SMM).

Las muestras para este estudio se obtuvieron bajo los permisos especiales de colecta científica, D00.02.-1202 del 6.3.2000 y D.00.02.-1363 del 12.3.2001, otorgados por el Instituto Nacional de Ecología (INE) - Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAT).

Investigación y Conservación de Mamíferos Marinos de Ensenada, A. C. (ICMME), proporcionó parte del material y equipo para el trabajo de campo.

A los socios y voluntarios de ICMME:

Erick Bravo, por su valiosa ayuda en el trabajo de campo y por proporcionar el mapa de las zonas de muestreo.

A la Dra. Yolanda Schramm, por las sugerencias en la formulación de las hipótesis, por prestar un espacio para guardar las muestras en el ultra congelador del laboratorio de biología molecular de la UABC y por fungir como un sinodal más, al revisar minuciosamente el escrito y hacerme propuestas interesantes.

Nemer Narchi, por su ayuda en el campo y por enseñarme a usar el “Photoshop”.

Lalo Morteo, Samanta de la Gala, Oscar Guzón, Ricardo Mendoza, Paola Batta, Leonardo Inclán y demás participantes en la toma de datos y muestras, por ayudar a enterrar a los animales muestreados.

A mi familia:

Chano del Toro y Consuelo Muñoz (mis papás), por la educación que me dieron, por todo el apoyo emocional y económico y por su casi infinita paciencia.

A mis hermanas Moria y Ana Lucía, por ser tan lindas.

A mi abuelo Guillermo, por transmitirme ese amor por el conocimiento y por regalarme todos sus recortes, artículos y libros sobre mamíferos marinos; y a todos los demás miembros de mi familia que me han dado tanto cariño y apoyo incondicional.

Al personal del IIO:

M. en C. Julio Villaescusa, por sus valiosos y desinteresados consejos en el análisis cromatográfico.

M. en C. Víctor Macías, por toda su disponibilidad y apoyo logístico en el laboratorio.

Marco Barbosa, por sus consejos para todo lo relacionado con la computadora.

M. en C. Pedro Castro, M. en C. Leslie Aveytua y demás compañeros, porque su presencia hizo más grata mi estancia en el laboratorio.

A mis amigos:

Rodrigo Gómez, por enseñarme la nobleza de su corazón y compartir tantas cosas conmigo. También por escuchar pacientemente muchas de mis reflexiones, no sólo sobre este proyecto.

Chela Flores, por revisar minuciosamente este trabajo y por su amistad.

Ana Cecilia López y Sandy Cruz, por ser mis mejores amigas de toda la vida.

Fabiola Lafarga, por su valiosa y sincera amistad, lo cual significó un enorme apoyo en este proceso. Por enseñarme a usar varios de los programas de computo que utilicé y ayudarme con la presentación.

Silvia Lew, por su amistad y ayuda en la edición de los cromatogramas.

Adrián Torales, por ser como mi hermano y confidente.

Mark Marín, por el apoyo de todo tipo en cada momento y por su amistad incondicional.

Juan Flores y Alberto Medina, por enseñarme tantos lugares bonitos que me cargaron de energía positiva.

Beatriz García (“Zanny”), Gerardo Larios, Etelberto Serrano, Santiago Mejía, Eneas Aguirre, Pedro Maldonado, Alejandro Rodríguez, Ricardo Hernández (“Ambriz”), Clarissa Galindo, otra vez Erick Bravo, Nemer Narchi, Oscar Guzón, Samantha de la Gala, Gisela Heckel, Yolanda Schramm, Dharma y Uma, por ser o haber sido mi familia en Ensenada.

También quiero agradecer al Dr. Axayácatl Rocha por su paciencia y al CICESE por darme facilidades para empezar el proyecto de maestría una vez terminado este trabajo.

ÍNDICE

<i>Resumen</i>	<i>i</i>
<i>Dedicatoria</i>	<i>ii</i>
<i>Agradecimientos</i>	<i>iii</i>
<i>Índice</i>	<i>vi</i>
<i>Lista de figuras</i>	<i>viii</i>
<i>Lista de tablas</i>	<i>ix</i>
Introducción	1
Pesticidas clorados	2
Bifenilos policlorados	5
Propiedades fisicoquímicas de los HCs	6
Patrones de acumulación de contaminantes	7
Características del animal	7
Métodos de muestreo y análisis	9
Toxicología	10
Biología del lobo marino de California	12
Distribución y migración	12
Hábitos alimentarios	14
<i>Antecedentes</i>	<i>15</i>
<i>Planteamiento del problema</i>	<i>18</i>
<i>Justificación</i>	<i>20</i>
<i>Hipótesis</i>	<i>22</i>
<i>Objetivos</i>	<i>23</i>
<i>Área de estudio</i>	<i>24</i>
<i>Método</i>	<i>26</i>
Campo	26
Laboratorio	27
Control de calidad de los análisis	31

1. Precisión del cromatógrafo	31
2. Tratamiento ácido	33
3. Blancos	34
4. Recuperación	34
Análisis estadístico	36
Resultados	37
Recolección de muestras	37
Análisis de laboratorio	40
Pesticidas	40
Bifenilos policlorados	52
Razón BPCs/DDE	60
Discusión	61
Homogeneidad de las muestras	61
Pesticidas	63
Bifenilos policlorados	69
Razón BPCs/DDE	72
Posibles efectos en la salud de los lobos marinos de California	73
Conclusiones	74
Literatura citada	77

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Estructura molecular de un pesticida y un bifenilo policlorado.</i>	1
<i>Figura 2. Localización del área de estudio, la Bahía de Todos Santos, Ensenada, Baja California.</i>	25
<i>Figura 3. Cromatogramas de los estándares utilizados: a) Mezcla A de pesticidas, b) mezcla B de pesticidas y c) bifenilos policlorados (BPCs).</i>	29
<i>Figura 4. Localización geográfica de los lobos marinos de California varados muertos en la Bahía de Todos Santos, Baja California, de los cuales se tomaron muestras de tejido adiposo subcutáneo.</i>	38
<i>Figura 5. Cromatograma del contenido de pesticidas y bifenilos policlorados (BPCs) en una muestra de grasa de lobo marino (especimen # 17) varado en la Bahía Todos Santos.</i>	40
<i>Figura 6. Concentración promedio (media aritmética) en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico de los pesticidas cuantificados en 18 muestras.</i>	41
<i>Figura 7. Concentración de pesticidas en las muestras 1, 3, 10 y 18 (a, b, c y d-1 respectivamente) y la correspondiente correlación entre dichas muestras y la media geométrica a partir de todas las muestras, sin tomar en cuenta al DDE (a, b, c y d-2).</i>	45
<i>Figura 8. Dendrograma de las muestras analizadas por su contenido de pesticidas.</i>	48
<i>Figura 9. Suma de todos los pesticidas en cada muestra y el correspondiente coeficiente de determinación (en la parte superior de cada columna). Las flechas indican muestras no incluidas en análisis posteriores por su bajo grado de correlación.</i>	49
<i>Figura 10. Composición (%) de los pesticidas en 13 muestras de lobos marinos.</i>	51
<i>Figura 11. Concentración promedio (media aritmética) en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico de los BPCs cuantificados en 18 muestras.</i>	52
<i>Figura 12. Concentración de BPCs en las muestras 1, 3, 10 y 18 (a, b, c y d-1 respectivamente) y la correspondiente correlación entre ellas y la media geométrica a partir de todas las muestras (a, b, c y d-2).</i>	55
<i>Figura 13. Dendrograma de las muestras analizadas por su contenido de BPCs.</i>	58
<i>Figura 14. Suma de BPCs en cada muestra y el correspondiente coeficiente de determinación (en la parte superior de cada columna). Las flechas indican muestras eliminadas en análisis posteriores por su bajo grado de correlación con las demás.</i>	59

LISTA DE TABLAS

<i>Tabla I. Ecuaciones de las curvas de calibración de las mezclas de estándares de pesticidas, a) mezcla A y b) mezcla B.</i>	31
<i>Tabla II. Límite de detección calculado para cada pesticida.</i>	32
<i>Tabla III. Porcentaje de degradación por el tratamiento ácido en los pesticidas.</i>	33
<i>Tabla IV. Porcentaje de recuperación de los pesticidas (mezcla A) durante el análisis de laboratorio.</i>	35
<i>Tabla V. Datos de las muestras de grasa de lobos marinos de California varados muertos, tomadas de enero de 2000 a noviembre de 2001 en la Bahía de Todos Santos, Baja California.</i>	39
<i>Tabla VI. Concentración en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico de los pesticidas identificados y cuantificados en las muestras de grasa de lobo marino.</i>	42
<i>Tabla VII. Matriz de correlación (r) entre las muestras analizadas, por su contenido de pesticidas (sin tomar en cuenta al DDE). Las correlaciones en color negro son significativas a $p < 0.05$.</i>	47
<i>Tabla VIII. Composición (%) de los pesticidas agrupados por isómeros en las 13 muestras con alto grado de correlación, y los correspondientes intervalos de concentración (en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico).</i>	50
<i>Tabla IX. Concentración de BPCs en 18 muestras de grasa de lobo marino ($\mu\text{g/g}$ de peso lipídico).</i>	53
<i>Tabla X. Matriz de correlación (r) por el contenido de BPCs entre las muestras analizadas. Las correlaciones en color negro son significativas a $p < 0.05$.</i>	57
<i>Tabla XI. Concentración media (media geométrica en $\mu\text{g/g}$ de lípidos) y porcentaje de BPCs en las 13 muestras de grasa de lobos marinos seleccionadas.</i>	60
<i>Tabla XII. Comparación de algunos de los contaminantes cuantificados en este estudio (media geométrica e intervalos de concentración en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico) con los reportados en trabajos anteriores sobre tejido graso de la misma especie (<i>Z. c. californianus</i>) y de otros mamíferos marinos varados en la costa de Oregon entre 1991 y 1995 (<i>Phoca vitulina</i> y <i>Phocoena phocoena</i>).</i>	67

INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos clorados, genéricamente llamados organoclorados (OCs), son un grupo diverso de compuestos orgánicos sintéticos con uso agrícola (pesticidas) e industrial (bifenilos policlorados o BPCs). Estos compuestos están presentes como contaminantes en el ambiente marino. Entran al medio acuático a través de diferentes vías (terrestres, aéreas o aplicaciones directas) y, en función de la marea y las corrientes marinas, pueden desplazarse a grandes distancias, bioacumularse (aumentar su concentración a través de la cadena trófica) y biomagnificarse (Bejarano-González, 2002). La mayoría de estos compuestos son altamente solubles en grasa (lipofílicos) pero tienen baja solubilidad en el agua (hidrofóbicos) (O'Shea, 1999). Debido a su estabilidad química son altamente persistentes y se acumulan en los tejidos lipídicos de animales, especialmente en aquellos con limitadas habilidades para metabolizar y excretar dichas sustancias, así como en los que se encuentran en altos niveles de la cadena trófica, tales como los mamíferos marinos.

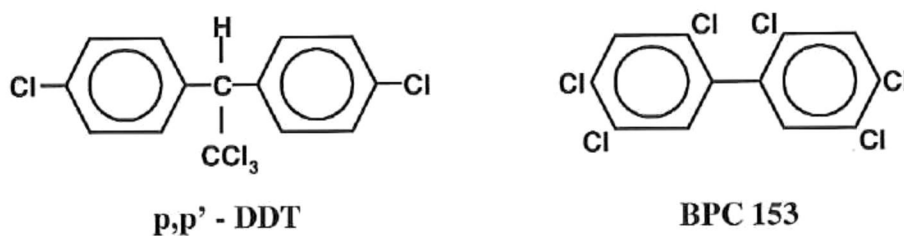


Figura 1. Estructura molecular de un pesticida y un bifenilo policlorado.

Los mamíferos marinos son buenos indicadores de contaminación, debido a que muchas especies presentan largos períodos de vida, ocupan un nivel alto en la cadena trófica y presentan grandes reservas de grasa, que es un almacén ideal para contaminantes organoclorados porque es el tejido con mayor porcentaje de lípidos (Aguilar y Borrell, 1991). En particular, el lobo marino de California es carnívoro y por lo tanto puede ser un buen bioindicador porque acumula los contaminantes durante toda su vida. En función de su amplia distribución y gran capacidad de movimiento, se puede suponer que la determinación de organoclorados en estudios previos en California (LeBoeuf y Bonnell, 1971; Lieberg-Clarck, 1995; Hayteas y Duffield, 1997 y Kajiwara *et al.*, 2001) representa un antecedente del uso de estas sustancias en la región.

En este trabajo se utilizaron los lobos marinos varados muertos en la Bahía de Todos Santos, Baja California, como fuente de información sobre la contaminación por organoclorados en su hábitat, la costa noroeste del Pacífico, desde Estados Unidos hasta el sur de la península de Baja California. Actualmente el uso de organoclorados está prohibido a nivel mundial y por lo tanto se pretendió encontrar en este estudio una concentración menor a la reportada por los autores mencionados.

Pesticidas clorados

Los pesticidas son compuestos que tienen una toxicidad exclusiva, es decir, que son tóxicos específicos que atacan al organismo objetivo o eliminan selectivamente una plaga en una comunidad biológica (Pryde, 1973). De acuerdo con esta propiedad,

pueden ser clasificados en función de su uso en insecticidas, herbicidas y fungicidas. También pueden ser clasificados según su estructura química en organoclorados y organofosforados (Nimmo, 1985). En este trabajo se estudiaron únicamente pesticidas que por presentar en su molécula al menos un átomo de cloro son organoclorados. Este grupo de compuestos se clasifica, de acuerdo con su estructura molecular y sus propiedades químicas, en diferentes grupos. El grupo de los DDTs (i.e. el DDT y sus metabolitos; Fig. 1) es el grupo que por su toxicidad, persistencia y su uso extensivo a nivel global es el más reconocido en estudios de contaminación ambiental. El DDT fue sintetizado por primera vez en 1874 por el químico alemán Zeidler, sin embargo, fue hasta 1939 cuando sus propiedades insecticidas contra una gran variedad de artrópodos fueron descubiertas por Müller (O'Shea, 1999). Este compuesto se utilizó a gran escala en la India contra la malaria y durante la Segunda Guerra Mundial en contra del tifo. En México el DDT se introdujo a principios de los años 1950s para uso en la agricultura pero, al igual que en muchas partes del mundo, en la década de los 1970s su empleo comenzó a decrecer. En 1997 el uso del DDT en México sólo estaba autorizado para las campañas de salud pública como una importante herramienta en la lucha contra la transmisión del paludismo. Debido a cambios en las campañas sanitarias, en los últimos años ha disminuido considerablemente la necesidad del DDT para controlar el paludismo (CCA, 1997). Los DDTs son el grupo de metabolitos organoclorados más ampliamente reportado en el mundo (O'Shea, 1999).

El grupo de los hexaclorociclohexanos (HCHs) incluye al lindano (γ -HCH) y otros metabolitos. El lindano es un insecticida orgánico halogenado usado mundialmente en

agricultura, fue sintetizado por vez primera en 1825 por Faraday (EPA, Glossary, 2001) y actualmente está autorizado en México (Bejarano-González, 2002). Se degrada fácilmente bajo condiciones anaeróbicas, pero es sumamente persistente en el suelo. Es el ingrediente activo de productos comerciales para el control de plagas en casas y también es el agente activo de la medicina Kwell[®], usada para enfermedades ectoparásitas de humanos (EPA, 1999). Se le conoce como carcinógeno e interruptor de funciones endocrinas. Se ha encontrado en grandes cantidades en el cerebro de mamíferos marinos debido a que es de los pocos organoclorados que se asocian con fosfolípidos, los lípidos principales de este órgano (O'Hara y O'Shea, 2001), y por lo tanto, puede inducir graves efectos sobre el sistema nervioso central. En años recientes se ha encontrado que algunas cianobacterias son capaces de metabolizar este compuesto.

En este trabajo se reportan también los ciclodienos, que incluyen al aldrín, endrín y dieldrín, así como a los clordanos. Estos compuestos son altamente neurotóxicos, con una toxicidad mucho más específica que el DDT y con mecanismos de acción diferentes a nivel bioquímico y celular (O'Shea, 1999). Fueron usados en grandes cantidades como insecticidas de suelo para el control de termitas y estadios larvarios de otros insectos que se alimentan de las raíces de plantas (Pryde, 1973). Algunos autores consideran al dieldrín como una de las sustancias químicas más persistentes. Los insecticidas ciclodienos clordanos son una mezcla de compuestos e isómeros donde el clordano representa 60% (O'Shea, 1999). Otros componentes de la mezcla incluyen al endosulfán (insecticida autorizado en México, Bejarano-González, 2002), el heptacloro y su metabolito más tóxico, el heptacloro epóxido. Estos compuestos han sido encontrados en

tejidos de mamíferos marinos alrededor del mundo, pero en concentraciones relativamente bajas (O'Shea, 1999).

En el ambiente, los pesticidas se degradan en una variedad de otras sustancias debido a su interacción con el suelo, la luz solar y el oxígeno, por la acción de organismos vivos tales como los microorganismos del suelo o por la ingestión de animales superiores que son descompuestos en el hígado en compuestos más solubles que finalmente son excretados (Bejarano-González, 2002). Generalmente, los productos de la degradación de los pesticidas son menos tóxicos que el plaguicida original, pero también puede suceder lo contrario: un pesticida puede transformarse en el medio ambiente y convertirse en una sustancia más tóxica que la original; por ejemplo, el DDT es metabolizado por las plantas en DDD y DDE y en TDE y DDE por mamíferos; cada una de estas sustancias afectan a varios órganos de manera diferente (O'Hara y O'Shea, 2001 y Bejarano-González, 2002).

Bifenilos policlorados

Bifenilos policlorados (BPCs) es el nombre genérico de muchos isómeros y congéneres cuya molécula está constituida de anillos bifenílicos con diez posibles sitios de sustitución por átomos de cloro; su fórmula empírica es $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, donde $n = 1-10$ (Fig. 1). Este grupo de compuestos se sintetizó por vez primera en 1881 por Schmidt y Schulz y fue producido comercialmente desde 1929 (Tanabe, 1988). Existen 209 posibles congéneres que incluyen desde los monoclorados hasta el decaclorado (Oliver

et al., 1989); cada uno de los congéneres difiere en el número y/o la posición de los átomos de cloro en el anillo bifenílico. Esto resulta en una toxicidad y persistencia variables en la biota. Sin embargo, se sabe que los congéneres más tóxicos son aquellos cuya posición de los átomos de cloro les confiere una configuración coplanar, los cuales corresponden al 6% de todos los BPCs posibles (Mastrantonio, 2000). La persistencia de los BPCs generalmente aumenta con un mayor número de átomos de cloro (Marine Mammal Commission, 1999).

Mezclas de BPCs con diferente composición y grado de cloración fueron manufacturadas en diversos países del mundo. En los Estados Unidos de Norte América, por ejemplo, los BPCs fueron producidos a nivel comercial bajo el nombre de “Aroclor[®]” (Hooper *et al.*, 1990). Debido a sus propiedades químicas, los BPCs se utilizaron en una diversa gama de funciones en sistemas industriales como plastificadores, lubricantes, tintas, pinturas, adhesivos, retardantes de flama, barnices, preservadores, refrigerantes en transformadores, líquidos dieléctricos, fluidos conductores de calor, líquidos hidráulicos resistentes al fuego, bombas de vacío, y electro magnetos, entre otros (Hooper *et al.*, 1990; Oliver *et al.*, 1989 y Mastrantonio, 2000).

Propiedades fisicoquímicas de los HCs

La mayoría de los organoclorados son no polares o tienen baja polaridad (baja constante dieléctrica) por lo que se disuelven en sustancias no polares como las grasas y

aceites. Tienen punto de ebullición alto, baja presión de vapor a temperatura ambiente, una relación viscosidad-temperatura alta, alta lipofilicidad, hidrofobicidad y alto potencial de bioacumulación (Oliver *et al.*, 1989).

Patrones de acumulación de contaminantes

En muchos estudios sobre contaminación en mamíferos marinos se ha encontrado que existen diversos factores que afectan la concentración de contaminantes en los tejidos de estos animales. Aguilar (ver EPA, 1994) enlista los siguientes factores agrupados en dos categorías:

1. Características del animal: condición nutricional, sexo y edad, nivel en la cadena trófica y metabolismo o excreción diferenciales.
2. Método de muestreo y análisis: variación en las técnicas de muestreo, en la preservación de tejidos y en los procedimientos analíticos.

Características del animal

La edad, el sexo y el estado reproductivo tienen efectos significativos en el contenido de organoclorados en grasa de mamíferos marinos (O'Shea, 1999). Hembras y machos inmaduros comúnmente no muestran diferencias en la concentración de organoclorados en grasa. Sin embargo, los animales maduros muestran diferencias significativas entre sexos. La concentración de organoclorados entonces incrementa con la edad en machos, pero disminuye en hembras. Estas diferencias son atribuibles a la

transferencia de organoclorados de hembras a crías durante la gestación y lactancia y a la falta de vías de excreción en machos. Los organoclorados se acumulan en el feto a través de la placenta, sin embargo, la transferencia reproductiva en la leche materna (rica en lípidos) es especialmente pronunciada. Algunos estudios indican que la descarga de contaminantes de madre a cría es mucho mayor con la primera cría que con las subsecuentes (O'Shea, 1999). Tratándose en particular de la población de lobo marino de California, además de las diferencias entre sexos en cuanto a la acumulación de contaminantes, los patrones de dispersión de los animales generan otro tipo de variación: por lo general, los machos adultos tienden a pasar menos tiempo en un área que las hembras y las crías a lo largo del año (Odell, 1975), lo cual probablemente produce una exposición a contaminantes menor o más variable en los machos, ya que no cuentan con una sola fuente local de alimentación.

Además de las fuentes de variación mencionadas, diferencias en la concentración de organoclorados en mamíferos marinos pueden ser atribuidas a la localización geográfica de su distribución y al tipo de alimentación o nivel trófico que ocupan (O'Shea, 1999). Mamíferos marinos que habitan en zonas altamente contaminadas por organoclorados, como las aguas costeras cercanas a centros industriales y agrícolas, tienden a tener mayores concentraciones de organoclorados en sus tejidos que especies cuya distribución es oceánica (O'Shea, 1999). De igual forma, las estrategias de alimentación tienen influencia en la naturaleza y el grado de exposición a contaminantes. Las especies que ocupan un nivel alto en la cadena trófica (como los carnívoros) tienden

a llevar una mayor carga de contaminantes en el cuerpo por bioacumulación que las especies que se alimentan de zooplancton.

Otro factor de variación en la concentración de contaminantes en estos animales puede ser la condición del organismo o estado nutricional, debido a que refleja el porcentaje de lípidos en el tejido adiposo.

Métodos de muestreo y análisis

La concentración de los contaminantes en la grasa varía en función de la ubicación de ésta en el cuerpo del animal y por lo tanto la ubicación de la muestra puede afectar los resultados. Calambokidis *et al.* (1978; citado por EPA, 1994) encontraron variabilidad de BPCs y DDTs en nueve locaciones distintas de foca de puerto (*Phoca vitulina*). Así mismo, Aguilar y Borrell (1991) observaron diferencias en la concentración de organoclorados en diferentes capas (submuestras) de la grasa de ballenas.

Los distintos métodos analíticos utilizados para cuantificar y reportar los datos también pueden aportar variación en los resultados. Rimkus *et al.* (1993) realizaron un estudio sobre organoclorados en grasa de foca de puerto en quince laboratorios distintos, con diferentes métodos analíticos (limpieza y determinación cromatográfica). Lo anterior con el fin de establecer una mejor base de comparación entre datos generados por distintos laboratorios. En general encontraron poca variación en los resultados (reportan valores de R o factor de reproducibilidad, de 1.29 a 1.89, o bien valores de desviación estándar relativa alrededor de 30), pero atribuyeron dicha variación a

deficiencias en la separación de los compuestos, a una sensibilidad inadecuada o a la falta de una respuesta lineal en el detector o a la insuficiente pureza en los estándares de referencia.

Es recomendable usar materiales de referencia o estándares para calibrar y monitorear la precisión de los métodos (EPA, 1994). En el caso de muestras de grasa, cuyos patrones de variación en la acumulación de contaminantes difiere a los de otros tejidos (O'Shea, 1999), es conveniente reportar los resultados en peso lipídico. El porcentaje de lípidos en la grasa puede variar con el estado nutricional de cada animal, por lo tanto es aconsejable calcular el porcentaje de lípidos de forma rutinaria.

Toxicología

Numerosos estudios han sugerido que la exposición a OCs puede tener impacto sobre las poblaciones de mamíferos marinos (O'Shea, 1999). Sin embargo, sólo unos cuantos han podido confirmar experimentalmente dicha suposición. Reijnders (1980, citado por Marine Mammal Commission, 1999), verificó experimentalmente que la presencia de BPCs en foca de puerto (*Phoca vitulina richardsii*) genera deterioro reproductivo. Alimentó a dos grupos de focas con dietas altas y bajas en BPCs respectivamente y comprobó que el éxito reproductivo fue significativamente menor en el grupo alimentado con dietas altamente contaminadas; este grupo también presentó niveles reducidos en vitamina A y hormona tiroidea, y las respuestas inmunes fueron suprimidas en estos animales. Por otro lado, De Long y colaboradores (1973)

relacionaron nacimientos prematuros de lobos marinos de California en las Islas del Canal, California, con la presencia de organoclorados.

La razón principal por la cual la evaluación del impacto de los contaminantes en mamíferos marinos es difícil se debe a que los estudios se realizan principalmente en el campo, donde es imposible aislar otras causas potenciales de muerte o enfermedad (O'Hara y O'Shea, 2001). Además, los mamíferos marinos están expuestos a mezclas complejas de contaminantes que difícilmente se pueden aislar para evaluar los efectos de cada compuesto individualmente. Por otro lado, los estudios de exposición controlada con mamíferos marinos en cautiverio son logísticamente complicados, excesivamente caros y tienen aspectos éticos que deben ser considerados cuidadosamente (Marine Mammal Commission, 1999).

De acuerdo con O'Shea (1999), existen tres caminos potenciales por los cuales los efectos de la contaminación pueden manifestarse: mortandad directa, deterioro reproductivo e incremento en la susceptibilidad a enfermedades. Sin embargo, aún no se han encontrado evidencias particulares para la mortandad directa en mamíferos marinos y la mayoría de los efectos supuestos están relacionados con problemas reproductivos por la presencia de BPCs o DDTs. Aguilar *et al.* (2002) enlistan los efectos adversos de los organoclorados en mamíferos marinos registrados por diversos autores: depresión del sistema inmune y la subsiguiente susceptibilidad a enfermedades infecciosas que pueden causar la muerte, deterioro reproductivo, lesiones en las glándulas adrenales y otros órganos, cáncer y alteraciones en el crecimiento óseo entre otros.

Biología del lobo marino de California

Distribución y migración

Scheffer (1958) reconoce tres subespecies de *Zalophus californianus* separadas geográficamente, distribuidas a lo largo del Pacífico:

1. *Z. c. wollebaeki*, que habita en el archipiélago de Galápagos.
2. *Z. c. japonicus*, que se ha encontrado en islas japonesas y del sur de Corea, aunque algunos investigadores la consideran extinta (Byrum, 1995).
3. *Z. c. californianus*, que se distribuye a lo largo de la costa noreste del Océano Pacífico desde la isla Vancouver, Canadá, hasta las islas Marías, incluyendo el Golfo de California, en México (Peterson y Bartholomew, 1967).

El 46% de la población total de *Z. c. californianus* reside en la costa del Pacífico mexicano, 16% habita el Golfo de California y el resto se distribuye en aguas de Estados Unidos (35%) y Canadá (3%) (Le Boeuf *et al.*, 1983). Sin embargo, en la actualidad estos porcentajes han cambiado, desde años recientes 50% de la población se encuentra en E. U. A., 33% en la costa occidental de la península de B. C., 14% en el Golfo de California y 3% en Canadá (Lowry y Maravilla, 2002).

Con base en un análisis con secuencias de haplotipos (DNA mitocondrial) de esta subespecie, Schramm (2002) encontró una población estructurada en cuatro grupos bien definidos dentro de su distribución en México: uno en el Pacífico (en las islas Coronados, Benitos, Cedros, Asunción y Santa Margarita), y tres restantes dentro del Golfo de California: Golfo sur (Los Islotes), Golfo centro (Isla San Esteban, lobera Los

Cantiles en Isla Ángel de la Guarda, Isla Granito e Isla Lobos) y Golfo norte (Isla San Jorge). Anteriormente, Maldonado *et al.* (1995) no encontraron diferencias significativas entre los organismos de San Miguel y San Nicolás en California, E. U. A. y lobos marinos de Punta Banda, en la Bahía Todos Santos, Baja California.

Con base en diversos estudios, realizados principalmente mediante censos aéreos de lobo marino de California en distintas localidades a lo largo de su distribución (por ejemplo: Bartholomew y Boolootian, 1959; Le Boeuf *et al.*, 1983), se ha demostrado el movimiento de estos animales por la presencia o ausencia de los mismos. Esto puede estar relacionado con la temporada reproductiva, que es en verano. Sin embargo, todavía no es posible describir un patrón de migración, sino que sólo se conoce el nivel de dispersión de los animales (Aurioles-Gamboa, 1988, citado por Schramm, 2002). Por lo general se sabe que son los machos los que realizan predominantemente la migración, mientras las hembras, acompañadas de las crías, permanecen en las áreas de reproducción por tiempo considerable (Lluch-Belda, 1969). Durante otoño-invierno los machos adultos que habitan las islas de Baja California y el sur de California (USA), migran hacia el norte a las Islas del Canal, California y a Oregon, Washington y Columbia Británica, respectivamente. Antes del siguiente período reproductivo regresan al sur, mientras que algunas hembras y posiblemente machos subadultos se mueven hacia el sur en invierno y hacia el norte en verano (Aurioles-Gamboa *et al.*, 1983; Byrum, 1995).

Hábitos alimentarios

El lobo marino de California se alimenta principalmente en la zona nerítica. Su dieta se basa en diversas especies de peces y cefalópodos como anchoveta, merluza, anguila, arenque, pequeños tiburones, pulpo y calamar (Antonelis *et al.*, 1990; Jones, 1981; Aurióles-Gamboa *et al.*, 1984 y Byrum, 1995). Debido a que los peces presa del lobo marino están contaminados por organoclorados (Brown *et al.*, 1998 citado por Marine Mammal Commission, 1999), la fuente de contaminación más significativa es a través del alimento.

ANTECEDENTES

La producción de bifenilos policlorados y la utilización de pesticidas organoclorados se realizó en gran escala durante los años 1940s y los 1950s (Tanabe, 1988). Entre 1929 y 1977 se produjeron en todo el mundo alrededor de un millón doscientas mil toneladas de BPCs (Mastrantonio, 2000). En este período existía poco reconocimiento e inquietud sobre contaminantes ambientales, particularmente los relacionados con mamíferos marinos. Sin embargo, en 1966 se publicó por primera vez la presencia de DDT y sus metabolitos en focas de la Antártica (Salden *et al.*, 1966; George y Frear, 1966, citados por Marine Mammal Commission, 1999; y Tanabe, 1988). A partir de estos trabajos, la presencia de DDT, DDE, DDD, dieldrín y BPCs en tejidos de mamíferos marinos, principalmente grasa, fue ampliamente documentada.

La lista de hidrocarburos clorados (HCs) reportados en estos animales se extendió a 26 compuestos o grupos de compuestos en el curso de los años 1970s (Marine Mammal Commission, 1999). En esta década, trabajos como el de De Long *et al.* (1973) con lobos marinos de California sugirieron una asociación entre la concentración de los contaminantes y problemas reproductivos u otras enfermedades en pinnípedos, aunque la interpretación causa-efecto de dicha asociación no fue posible.

Debido a las características de persistencia, bioacumulación, biomagnificación y transporte a grandes distancias de estos compuestos, en 1979 se prohibió el uso y la producción de la mayoría de los pesticidas organoclorados y BPCs en muchas partes del mundo, a través del Convenio de Estocolmo sobre *Contaminantes Orgánicos*

Persistentes (COPs) y de la Agencia de Protección Ambiental (EPA, E.U.A.) respectivamente (Bejarano-González, 2002 y Marine Mammal Commission, 1999).

Posteriormente, en la década de los 1980s, se desarrollaron tecnologías analíticas más sofisticadas para la cuantificación de congéneres de BPCs individuales, así como las correspondientes hipótesis sobre la capacidad metabólica de mamíferos marinos y la posible vulnerabilidad de su fisiología endocrina ante los contaminantes. Con muchos trabajos originados en este período se verificaron fuertes patrones de acumulación de algunos compuestos organoclorados dados por el sexo y la edad entre especies: en general, las concentraciones en grasa incrementan con la edad en machos pero disminuyen después de la primera etapa de reproducción en hembras (O'Shea y Brownell, 1998).

Finalmente, en la década de los 1990s, la investigación sobre contaminantes en mamíferos marinos profundizó en la influencia de estos compuestos sobre procesos patógenos. Además, se enfatizó la posible importancia de las interrupciones endocrinas sobre la dinámica de las poblaciones (Marine Mammal Commission, 1999).

Particularmente, la especie de lobo marino de California (*Z. c. californianus*) ha sido poco estudiada en cuanto a contaminantes en sus tejidos. Anteriormente se han realizado algunos estudios en aguas de la costa oeste de Norteamérica. En 1971 Le Boeuf y Bonnell reportaron extraordinarias concentraciones de DDTs en tejido graso de *Z. c. californianus* (1452 $\mu\text{g/g}$ sobre peso lipídico, n = 25), pero no fue hasta dos décadas más tarde cuando Lieberg-Clarck *et al.* (1995) continuaron este estudio y encontraron niveles de DDE y DDT mucho menores a los citados anteriormente (media

geométrica para DDE de $5 \mu\text{g/g}$ de peso lipídico y 0.16 de DDT, $n = 7$). Hayteas y Duffield (1997) utilizaron las proporciones de los contaminantes en tejido graso de diversos mamíferos marinos varados en las costas de Oregon, incluido el lobo marino de California, para determinar la fuente de contaminación. Lo anterior se basó en que el desarrollo industrial fue mayor en el norte de Estados Unidos que en el sur, y por lo tanto hay mayores concentraciones de BPCs que de pesticidas en esta zona. Por otro lado, en el sur de Estados Unidos fue mayor el desarrollo agrícola que el industrial, de tal manera que los pesticidas en esta zona reflejan mayores concentraciones que los BPCs. Por último, Kajiwara y colaboradores (2001) reportaron concentraciones de pesticidas y BPCs en tejidos de lobo marino de California, foca elefante del norte (*Mirounga angustirostris*) y foca común o de puerto (*Phoca vitulina richardsi*) de las costas de California, EUA.

En México se han realizado escasos estudios sobre contaminación por HCs en mamíferos marinos. Recientemente, Valdez-Márquez (2001) analizó muestras de ballena azul y eufásidos del Pacífico mexicano y encontró, entre otras cosas, que el tejido graso de las ballenas del Golfo de California presenta niveles de concentración de HCs menores a las ballenas del Atlántico norte. Anteriormente, Árcega-Cabrera (1996) estandarizó una técnica para la preservación de tejido adiposo subcutáneo de cetáceos en dimetil sulfóxido, para estudios de contaminación por pesticidas y BPCs.

En cuanto a la región fronteriza México-Estados Unidos, Gutiérrez-Galindo *et al.* (1998) analizaron muestras de sedimentos, y reportan concentraciones de BPCs de 0.9 a 65 ng/g y de Σ pesticidas de 0.2 a 4.5 ng/g sobre peso seco.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Por su condición de carnívoros, los lobos marinos ocupan altos niveles en la cadena trófica; esto los hace sujetos importantes de bioacumulación y pueden hacer más evidente la presencia de HCs en el hábitat que otras especies de menor nivel trófico así como los sedimentos (Tanabe, 1988).

En la Bahía de Todos Santos, se tienen registros de varamientos de pinnípedos. La especie que se vara con mayor frecuencia en la zona es el lobo marino de California (Bravo, 2003). Esto permite obtener mayor número de muestras con mayor posibilidad de ser homogéneas (en cuanto a grupo de edad, sexo, condición nutricional, entre otros), lo cual contribuye a eliminar factores de variación en análisis sobre contaminación.

En este trabajo se pretende aprovechar la fuente de información que proveen los varamientos de lobo marino de California en la Bahía de Todos Santos, Baja California para evaluar niveles de contaminación por pesticidas y BPCs en la zona.

Anteriormente, se han reportado altas concentraciones de organoclorados en tejidos de lobos marinos en California, EUA; sin embargo, no existe información sobre el contenido de organoclorados en muestras de lobos marinos recolectadas en aguas mexicanas. Debido a que ambos países comparten ecosistemas en la zona fronteriza, así como la distribución de esta especie, los resultados de trabajos anteriores se pueden considerar representativos de la contaminación en toda la región. Además, actualmente el uso de organoclorados está prohibido a nivel mundial y, por lo tanto, un reporte reciente (este trabajo) podría informar sobre la disminución de contaminantes en la costa del Pacífico, desde Oregon, EUA, hasta Baja California, México.

Además, si Hayteas y Duffield (1997) usaron la razón BPCs/DDE para ubicar geográficamente la fuente de contaminación, es posible que esta misma razón sea útil para confirmar que el lobo marino de California, está conformado como una sola población en el Pacífico de Norteamérica y por lo tanto se alimenta y se distribuye en toda esta región.

JUSTIFICACIÓN

Está generalmente acordado que las especies de mamíferos marinos más apropiadas para ser sujeto de estudio sobre contaminación son aquellas de las que exista información acerca de la dinámica de su población, historia de vida y fisiología, que estén en cautiverio o sean fácilmente accesibles y que se hayan realizado estudios similares sobre su población. Otros factores a considerar son la facilidad de obtener un gran número de muestras de buena calidad para eliminar factores de variación, que la especie en cuestión habite en una zona donde se presente un gradiente de contaminación y finalmente se debe tomar en cuenta el estado de conservación de la especie (en peligro, amenazada, extinta.) (Marine Mammal Commission, 1999).

Aunque el patrón de migración del lobo marino de California no esté totalmente definido, es bien sabido que habita tanto en aguas mexicanas como estadounidenses y canadienses (Aurioles *et al.*, 1983). En esta zona se puede observar un gradiente de contaminación en el ecosistema, ya que el desarrollo industrial y agrícola en México ha sido mucho menor que en los países del norte. Además, es el pinnípedo más abundante y de distribución más amplia en México.

De acuerdo con Marine Mammal Commission (1999), el lobo marino de California y el lobo marino de Steller (*Eumetopias jubatus*) son los primeros candidatos entre los otáridos para ser estudiados en cuanto a contaminación debido a que su ecología e historia de vida están relativamente bien documentadas.

El lobo marino de California se alimenta de peces que por lo general también son de consumo humano. Los contaminantes identificados y cuantificados en sus tejidos proveen información sobre los niveles de exposición a través de sus dietas, y por lo tanto también pueden revelar la posibilidad de contaminación sobre recursos marinos comerciales y de consumo público (Lynn *et al.*, 2001).

Por otro lado, Moody (2003) menciona que la única forma de asegurar que no se sigan utilizando los pesticidas organoclorados prohibidos es vigilar sus niveles en animales. Si los niveles descienden, no hay problema; pero si se elevan o permanecen iguales, significa que se está creando un mercado negro de estos compuestos.

HIPÓTESIS

1. La concentración de HCs en tejido adiposo subcutáneo, recolectado durante el 2000 y el 2001, a partir de lobos marinos varados en Bahía Todos Santos, Baja California, debe ser menor que en los especímenes de lobo marino recolectados en la costa de Oregon entre 1991 a 1995. Lo anterior se debe a que por la suspensión del uso de tales compuestos, la concentración de estos contaminantes en los ecosistemas disminuye gradualmente con el tiempo.
2. De acuerdo con Hayteas y Duffield (1997) mediante la razón BPCs/DDE es posible discriminar poblaciones de mamíferos marinos y examinar los movimientos migratorios de los animales. Con la información acerca de los patrones de migración de los lobos marinos, se puede inferir que tanto los lobos marinos de California varados en las costas de Oregon entre 1991 y 1995 como los estudiados en este trabajo se alimentaron en las mismas zonas y obtuvieron BPCs y DDE en la misma proporción. Por lo tanto, se espera encontrar valores similares de BPCs/DDE en el tejido graso de los animales de ambos estudios.

OBJETIVOS

1. Examinar niveles y composición de HCs en tejido adiposo subcutáneo de lobos marinos de California varados muertos en Bahía Todos Santos, Baja California.
2. Con base en la proporción BPCs/DDE, corroborar que la población de lobo marino de California obtiene su alimento desde las costas de Oregon hasta Baja California.

ÁREA DE ESTUDIO

La Bahía de Todos Santos, Baja California (Fig. 2), se encuentra en la costa noroeste de la península de Baja California, a 110 kilómetros al sur de la frontera México - Estados Unidos. Se localiza entre los paralelos 31°43' y 31°54' N y entre los meridianos 116°36' y 116°49' W. Cubre un área aproximada de 180 km². Está delimitada al norte por Punta San Miguel y al sur por la península de Punta Banda. Es una bahía somera, ya que 80% de su área presenta una profundidad menor de 50 m y algunos bajos de 6 m; el resto forma parte de un cañón submarino localizado entre las Islas de Todos Santos y Punta Banda. Presenta dos entradas bien diferenciadas en su topografía submarina, cuya división la constituyen las dos islas al suroeste. La entrada noroeste, con 12 km de ancho, presenta profundidades de 50 m, mientras que la entrada suroeste tiene 6 km de ancho, un perfil de fondo con pendientes pronunciadas y en la parte central profundidades de 400 m que corresponden al cañón submarino (Secretaría de Marina, 1974).

Las direcciones del oleaje en la Bahía de Todos Santos son del noroeste, oeste noroeste y oeste, con alturas que en condiciones normales oscilan entre 0.2 y 2.4 m (Coria, 1991).

Las corrientes litorales en la parte norte de la bahía presentan una dirección predominante hacia el sureste, en la parte sur la dirección es hacia el norte y en la parte central se tiene un área de convergencia de corrientes (Aranda, 1983).

Se le considera una bahía abierta con pendiente suave y con tres tipos de costa: protegida rocosa, abierta rocosa y abierta arenosa (García y Chee, 1976).

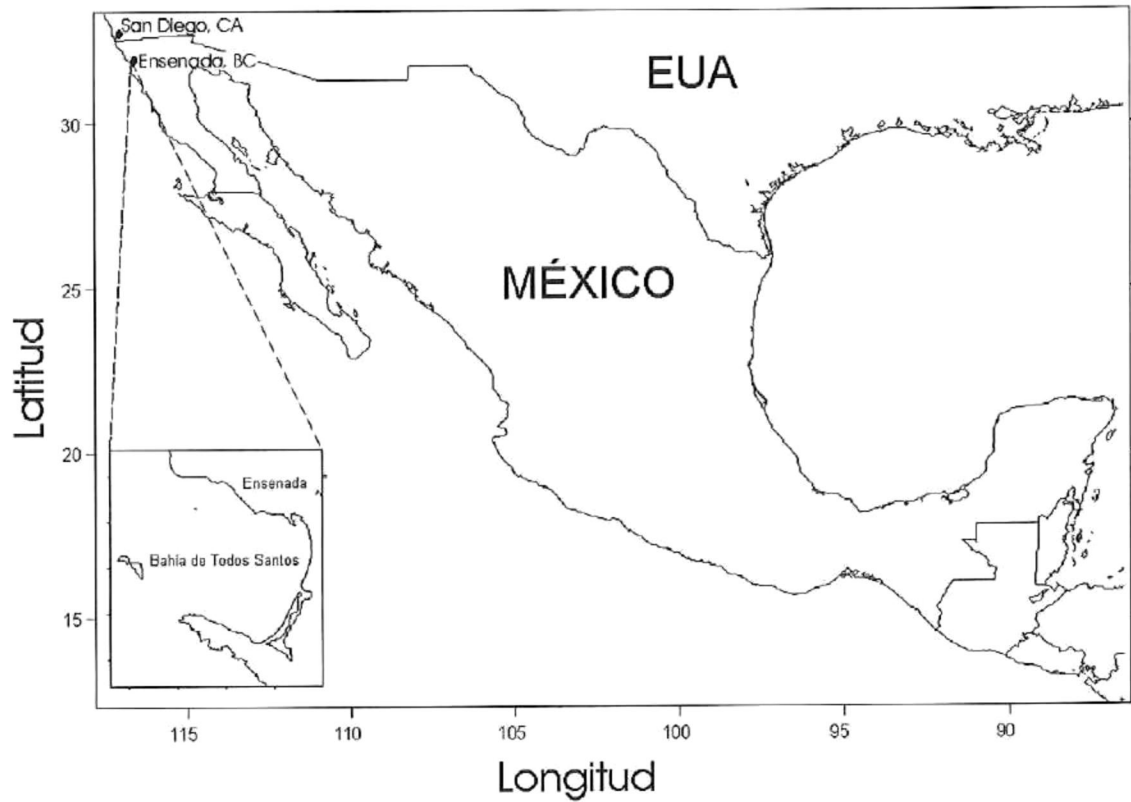


Figura 2. Localización del área de estudio, la Bahía de Todos Santos, Ensenada, Baja California.

MÉTODO

Campo

De enero de 2000 a noviembre de 2001 se atendieron avisos de la población de Ensenada sobre mamíferos marinos que se encontraron varados en las costas de Bahía Todos Santos. Además, se llevó a cabo un programa de recorridos a lo largo de la bahía en busca de lobos marinos varados. Se recolectaron muestras de tejido graso de 18 lobos marinos de California (15 machos, 2 hembras y una de sexo indeterminado) (Fig. 3). Además, se registraron otros datos de los organismos varados (grupo de edad, longitud, grosor de la capa de grasa y condiciones ambientales, entre otros) en formatos especiales diseñados por ICMME (Investigación y Conservación de Mamíferos Marinos de Ensenada, A.C.) (Bravo, 2003). El grupo de edad de los organismos muestreados se determinó en función de la longitud total de los mismos, de acuerdo con Geraci y Lounsbury (1993). Se recolectaron muestras de tejido adiposo subcutáneo con base en el método de Dierauf (1994). Las biopsias (3 cm^3) se obtuvieron con bisturí, únicamente de la parte ventral de los organismos varados, con el fin de reducir la variabilidad que potencialmente se puede asociar con la distribución heterogénea de HCs en tejido adiposo subcutáneo de diferentes partes del cuerpo (Severinsen *et al.*, 2000), y fueron almacenadas envueltas con papel aluminio a -80°C .

Laboratorio

La extracción, identificación y cuantificación de hidrocarburos clorados se realizaron siguiendo el método descrito por Bernhoft y Skaare (1994). Todo el material de vidrio se lavó con jabón Micro al 2% y agua desionizada, y se quemó a 400°C por 4 horas en la mufla. Antes de ser utilizado se enjuagó con acetona y hexano. Se pesaron de 1 a 2 g de grasa y se homogeneizaron con 5 ml de acetona y 5 ml de hexano en un tubo de ensayo. Posteriormente se extrajeron los lípidos por desintegración ultrasónica durante 5 minutos a 30°C. La extracción se repitió con la misma cantidad de disolventes y las mismas condiciones del ultrasonido. El contenido de grasa (% de lípidos) fue determinado después de secar la muestra por evaporación en un bloque de calentamiento a no más de 40°C con un ligero flujo de nitrógeno gaseoso.

Se tomaron 200 mg de la grasa obtenida y se redisolvieron con 2 ml de hexano. Con el fin de limpiar la muestra, es decir, hidrolizar las grasas y separarlas de los contaminantes, se adicionaron 3 ml de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se agitó cuidadosamente y se dejó reposar por media hora hasta lograr la separación en dos fases. Se tomó la parte orgánica del extracto y se repitió la extracción dos veces. La limpieza final del extracto se realizó con el método descrito por Holden y Marsden (1969). Las columnas cromatográficas de 9 mm de diámetro fueron empacadas con 3 g de alúmina desactivada al 5% (con agua destilada extraída con hexano) y tapadas con sulfato de sodio anhidro. Los extractos fueron pasados a través de la columna con la alúmina seca y se utilizaron 20 ml de hexano como eluente. Una vez terminada la limpieza, los

extractos fueron concentrados y se realizó un cambio de solventes a iso-octano hasta obtener un volumen final de 200 μ l.

Se inyectaron 2 μ l de la muestra en un cromatógrafo de gases de alta resolución (HP6890) con detector de captura de electrones ^{63}Ni . La muestra se inyectó a 80°C, se mantuvo la temperatura durante 1 minuto y posteriormente aumentó a una razón de 15°C/min hasta 150°C. Posteriormente, se incrementó la temperatura del horno a 2°C/min hasta 250°C. Finalmente, la temperatura se incrementó a 5°C/min hasta 315°C donde se mantuvo por 25 min. En total, la corrida cromatográfica duró 94 minutos. Se utilizó una columna capilar no polar DB-XXL de 60 m de longitud, 0.25 mm de diámetro y 0.25 μ m de grosor de película. Como gas acarreador se utilizó helio con un flujo de 2 ml/min y nitrógeno como gas compensador con flujo de 40 ml/min.

En los cromatogramas resultantes el BPC 138 y el DDT coeluyeron. Por tratarse de dos compuestos importantes para resolver las hipótesis de trabajo se procedió a su separación de acuerdo con el método descrito por Holden y Marsden (1969). La fraccionación se llevó a cabo en columnas cromatográficas (6 mm de diámetro) empacadas con 2 g de sílica desactivada al 5% (con agua destilada extraída con hexano) y tapadas con sulfato de sodio anhidro. Los extractos fueron pasados a través de la columna con la sílica seca y posteriormente se utilizaron 13 ml de hexano como eluyente. Para coleccionar a los BPCs en la primer fracción, la elución se detuvo a los 6 ml, el DDT eluyó con los 7 ml restantes. Posteriormente las fracciones fueron concentradas, se realizó un cambio de solventes a iso-octano hasta obtener un volumen final de 200 μ l y

se procedió a la inyección de tales fracciones con el mismo protocolo anteriormente usado.

Para la identificación y cuantificación de los compuestos se llevó a cabo una calibración con estándares de pesticidas y BPCs marca ULTRA (número de catálogo CLP-216 (mezcla A), CLP-226B (mezcla B), ISM-301 (surrogado), CLP-206 (estándar de fortificación) y RPC-EPA (BPCs)). Se determinó el tiempo de retención de los analitos a concentraciones conocidas (Fig. 3).

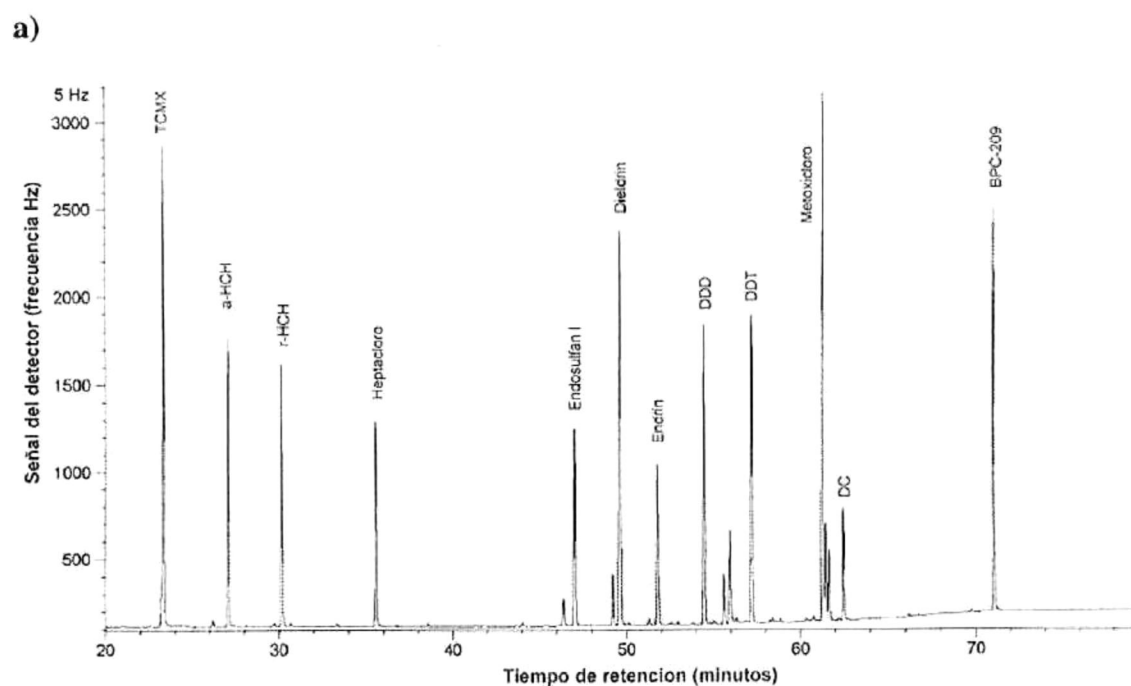
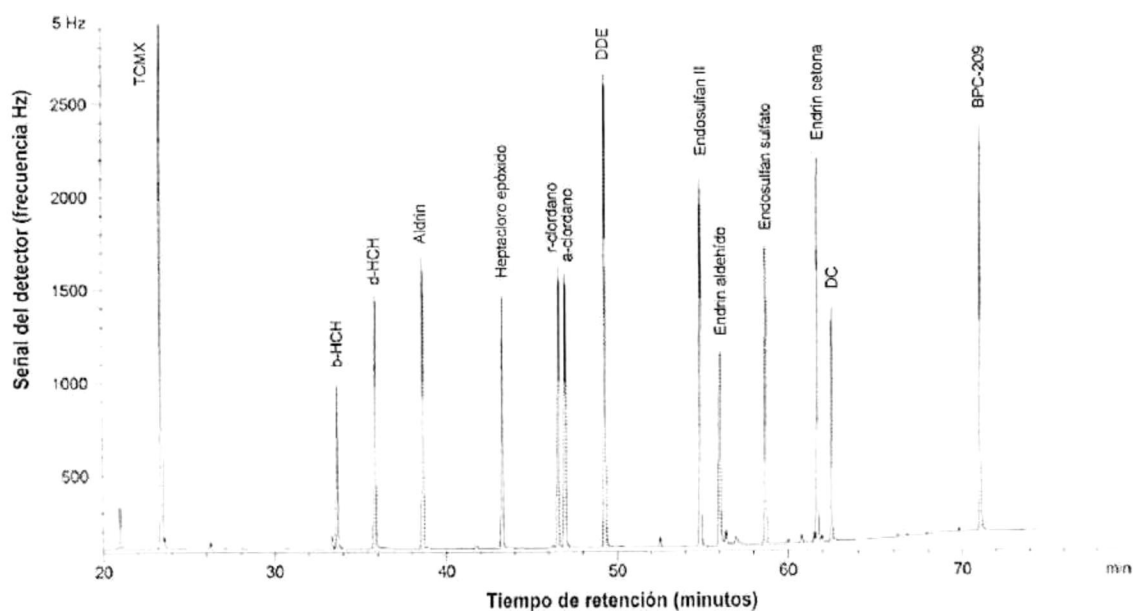


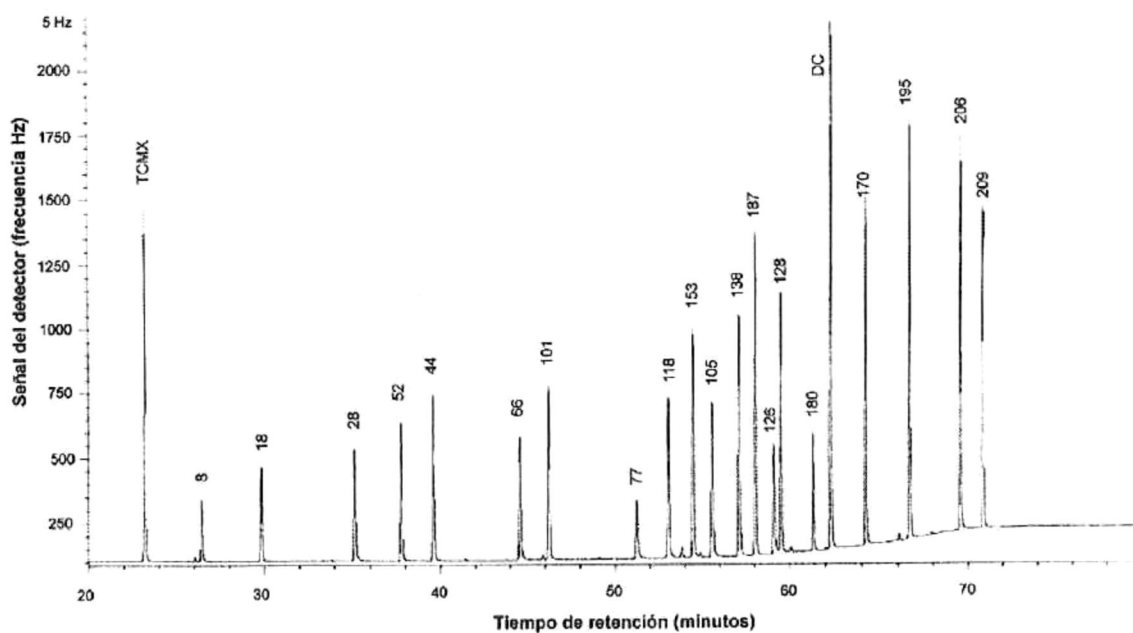
Figura 3. Cromatogramas de los estándares utilizados: a) Mezcla A de pesticidas, b) mezcla B de pesticidas y c) bifenilos policlorados (BPCs).

(Continúa en la siguiente página)

b)



c)



Los congéneres de BPCs son indicados por su número sistemático de la IUPAC.

Figura 3. Cromatogramas de los estándares utilizados: a) Mezcla A de pesticidas, b) mezcla B de pesticidas y c) Bifenilos Policlorados (BPCs).

Control de calidad de los análisis

Antes de procesar las muestras se llevó a cabo un protocolo diseñado para determinar diferentes aspectos que determinan la calidad en los análisis de laboratorio:

1. Precisión del cromatógrafo

Para determinar la precisión asociada con el análisis cromatográfico se inyectaron seis veces las mezclas de estándares de pesticidas a una concentración conocida. Se cotejó a través de parámetros estadísticos (media, desviación estándar y desviación estándar relativa) que las áreas de los picos de los compuestos fueran semejantes y que los tiempos de retención de cada compuesto coincidieran en todas las corridas.

La tabla I contiene la ecuación de la curva de calibración correspondiente a cada compuesto.

Tabla I. Ecuaciones de las curvas de calibración de las mezclas de estándares de pesticidas, a) mezcla A y b) mezcla B.

a)

Compuesto	Concentración original en la mezcla ($\mu\text{g/ml}$)	r^2	Curva de calibración (x = área, y = concentración)
α -HCH	5	0.999	$y = 0.0119 x + 1.8223$
γ -HCH (lindano)	5	0.999	$y = 0.0124 x + 1.3063$
Heptacloro	5	0.999	$y = 0.0151 x - 1.4644$
Endosulfán I	5	0.999	$y = 0.0142 x - 1.8223$
Dieldrín	10	0.999	$y = 0.0139 x - 2.1787$
Endrín	10.1	0.999	$y = 0.0334 x - 1.1496$
4, 4'-DDD	10	0.999	$y = 0.0188 x - 0.4126$
4, 4'-DDT	10.1	0.999	$y = 0.02 x + 2.8826$
Metoxicloro	50.2	0.995	$y = 0.0704 x - 39.886$

Continuación de la Tabla I.

b)

Compuesto	Concentración original en la mezcla ($\mu\text{g/ml}$)	r^2	Curva de calibración (x = área, y = concentración)
β -HCH	5	0.998	$y = 0.0199 x - 1.3661$
δ -HCH	5	0.999	$y = 0.0126 x + 2.6402$
aldrín	5	0.999	$y = 0.0108 x + 0.0896$
Heptacloro epóxido	5	0.998	$y = 0.0122 x - 1.228$
γ -Clordano	5	0.999	$y = 0.0107 x - 0.8881$
α -Clordano	5	0.998	$y = 0.0108 x - 1.2499$
4, 4'-DDE	10	0.998	$y = 0.0127 x - 2.6482$
Endosulfán II	10	0.997	$y = 0.015 x - 3.5837$
Endrín aldehído	10	0.997	$y = 0.0274 x - 0.0247$
Endosulfán sulfato	10	0.998	$y = 0.0213 x - 1.0777$
Endrín cetona	10	0.997	$y = 0.0173 x - 3.8748$

Para determinar el límite de detección de cada compuesto, se tomaron en cuenta los valores de la desviación estándar en las áreas de los picos correspondientes a la concentración más baja en las curvas de calibración (5 ng/ml) (Tabla II).

Tabla II. Límite de detección calculado para cada pesticida.

Compuesto	Límite de detección (pg)	Compuesto	Límite de detección (pg)
α -HCH	0.45	δ -HCH	0.36
γ -HCH	0.39	aldrín	0.42
Heptacloro	0.48	Heptacloro epóxido	0.39
Endosulfán I	0.18	γ -Clordano	0.27
Dieldrín	5.88	α -Clordano	0.12
Endrín	1.44	4, 4'-DDE	0.42
4, 4'-DDD	1.47	Endosulfán II	0.51
4, 4'-DDT	5.31	Endrín aldehído	0.21
Metoxicloro	38.4	Endosulfán sulfato	0.75
β -HCH	0.94	Endrín cetona	0.42

2. Tratamiento ácido

Se ha comprobado que el tratamiento con ácido sulfúrico puede degradar algunos de los pesticidas organoclorados mas no a los BPCs (Rimkus *et al.*, 1993; Brannon y Karn, 1990, citado por Valdez, 2001). Para ubicar los compuestos que disminuyen su concentración y en qué cantidad, se realizó dicho tratamiento a cada estándar de pesticidas por triplicado (con la misma concentración del ejercicio anterior) y se mantuvo el mismo tiempo de extracción de la fase orgánica en cada réplica. La tabla III contiene los porcentajes en que los pesticidas fueron degradados por el tratamiento ácido.

Tabla III. Porcentaje de degradación por el tratamiento ácido en los pesticidas.

	Compuesto	% de degradación
Estándar A	α -HCH	0
	γ -HCH	0
	Heptacloro	0
	Endosulfán I	10
	Dieldrín	94
	Endrín	100
	DDD	0
	DDT	0
	Metoxicloro	36
	Estándar B	β -HCH
δ -HCH		0
Aldrín		12
Heptacloro epóxido		8
γ -Clordano		8
α -Clordano		7
DDE		12
Endosulfán II		76
Endrín aldehído		50
Endosulfán sulfato		13
Endrín cetona		20

Al comparar los cromatogramas de los estándares con y sin la adición del ácido, se encontró que algunos de los compuestos no son afectados (los HCH's, los DDT's, y el heptacloro). Los ciclodienos y el endosulfán II fueron los más afectados, puesto que su concentración disminuyó en más de 50%. Los demás compuestos presentaron una disminución menor a 30%.

3. Blancos

Con el fin de ubicar posibles contaminantes en las muestras y en el laboratorio, se llevó a cabo el tratamiento ácido al estándar surrogado (tcmx + PCB-209) por triplicado, las réplicas se limpiaron a través de columnas cromatográficas empacadas con alúmina y se inyectaron en el cromatógrafo. Los cromatogramas indicaron que no hubo presencia de contaminantes en los blancos puesto que sólo aparecieron los dos picos correspondientes a los analitos de dicho estándar. Lo anterior indica que los reactivos utilizados estuvieron limpios y que el manejo de las muestras en el laboratorio fue el adecuado.

4. Recuperación

Para conocer el porcentaje de recuperación de los HCs durante el análisis químico, se utilizaron seis réplicas de una muestra de grasa de lobo marino. A la mitad de las réplicas se les adicionó un estándar de fortificación con concentración conocida de algunos pesticidas (mezcla A). Posteriormente se realizó el tratamiento ácido a todas las réplicas y se inyectaron en el cromatógrafo. Mediante la comparación entre los parámetros estadísticos obtenidos para las muestras con y sin la adición del estándar de fortificación, se determinó en qué proporción se recuperan los compuestos durante el procedimiento (Tabla IV).

Tabla IV. Porcentaje de recuperación de los pesticidas (mezcla A) durante el análisis de laboratorio.

Estándar A	Compuesto	% de recuperación
	α -HCH	100
	γ -HCH	ND
	Heptacloro	ND
	Endosulfán I	88
	Dieldrín	100
	Endrín	*
	DDD	100
	DDT	97
	Metoxicloro	100

* No fue posible calcular el porcentaje de recuperación debido a que el tratamiento ácido degradó a este compuesto en un 100 % en el estándar (las réplicas con muestra si presentaron señal).

ND No detectable en la muestra.

Para conocer el efecto de cambio de matriz durante la inyección de la muestra en el cromatógrafo, se llevó a cabo el mismo procedimiento con una modificación, esta vez se adicionó el estándar B, como estándar de fortificación (a tres de seis réplicas de otra muestra de grasa de lobo marino) después del tratamiento ácido, justo antes de la inyección al cromatógrafo. Los resultados para este ejercicio fueron favorables, todos los compuestos se recuperaron 100% a excepción del endrín aldehído y el endosulfán sulfato que tuvieron bajo porcentaje de recuperación (37 y 79% respectivamente). Por otro lado, no fue posible calcular en qué porcentaje se recuperan el δ -HCH, el aldrín y el γ -clordano porque no fueron detectables en la muestra. Además, como parte del protocolo de control de calidad, durante la inyección de todas las muestras analizadas, cada cuatro muestras se realizó este ejercicio.

Análisis estadístico

Con el fin de determinar el grado de similitud entre muestras en cuanto a su contenido relativo (i.e. la proporción relativa) de pesticidas clorados y BPCs, se graficó la media geométrica ($G = \sqrt[n]{X_1 \cdot X_2 \cdot X_3 \cdots X_n}$) de la concentración de los contaminantes analizados en todas las muestras, contra la concentración en cada muestra (Figs. 7 y 12). Para cada una de estas relaciones se calculó el coeficiente de determinación (r^2) que puede servir como un índice de la similitud entre muestras (Figuras 9 y 14). Debido a que el DDE es un valor extremo en la curva de regresión, sesga al coeficiente de determinación, por lo cual no fue tomado en cuenta para el análisis comparativo entre muestras.

Por otro lado, se obtuvo una matriz de correlación entre muestras por su contenido de pesticidas (excluyendo las concentraciones de DDE, Tabla VII) y BPCs (Tabla X). Se realizó un análisis de agrupamiento con el método de grupos pareados no ponderados (UPGA, con distancias $1 - r$ de Pearson) para agrupar a las muestras de acuerdo con su grado de similitud (Figs. 8 y 13).

RESULTADOS

Recolección de muestras

Los datos registrados para cada muestra están contenidos en la Tabla V. La mayoría de los varamientos se registraron entre las playas del arroyo el Gallo y Nueva España (Fig. 4). En general, los organismos se encontraron en un estado de descomposición avanzado. Solo un organismo fue muestreado recién muerto. De los especímenes machos, 11 se clasificaron como adultos y 3 como subadultos, mientras que las dos hembras fueron adultos. El contenido lipídico en las muestras de grasa fue variable pero en la mayoría osciló entre 41 y 81% de lípidos (media = 62 y σ = 19). No fue posible determinar el grosor de la capa de grasa en todas las muestras, pero el valor más alto registrado fue de 3 cm, correspondiente al organismo recién muerto, y el más bajo de 0.5 cm que corresponde un organismo con estado de descomposición avanzado (Tabla V).

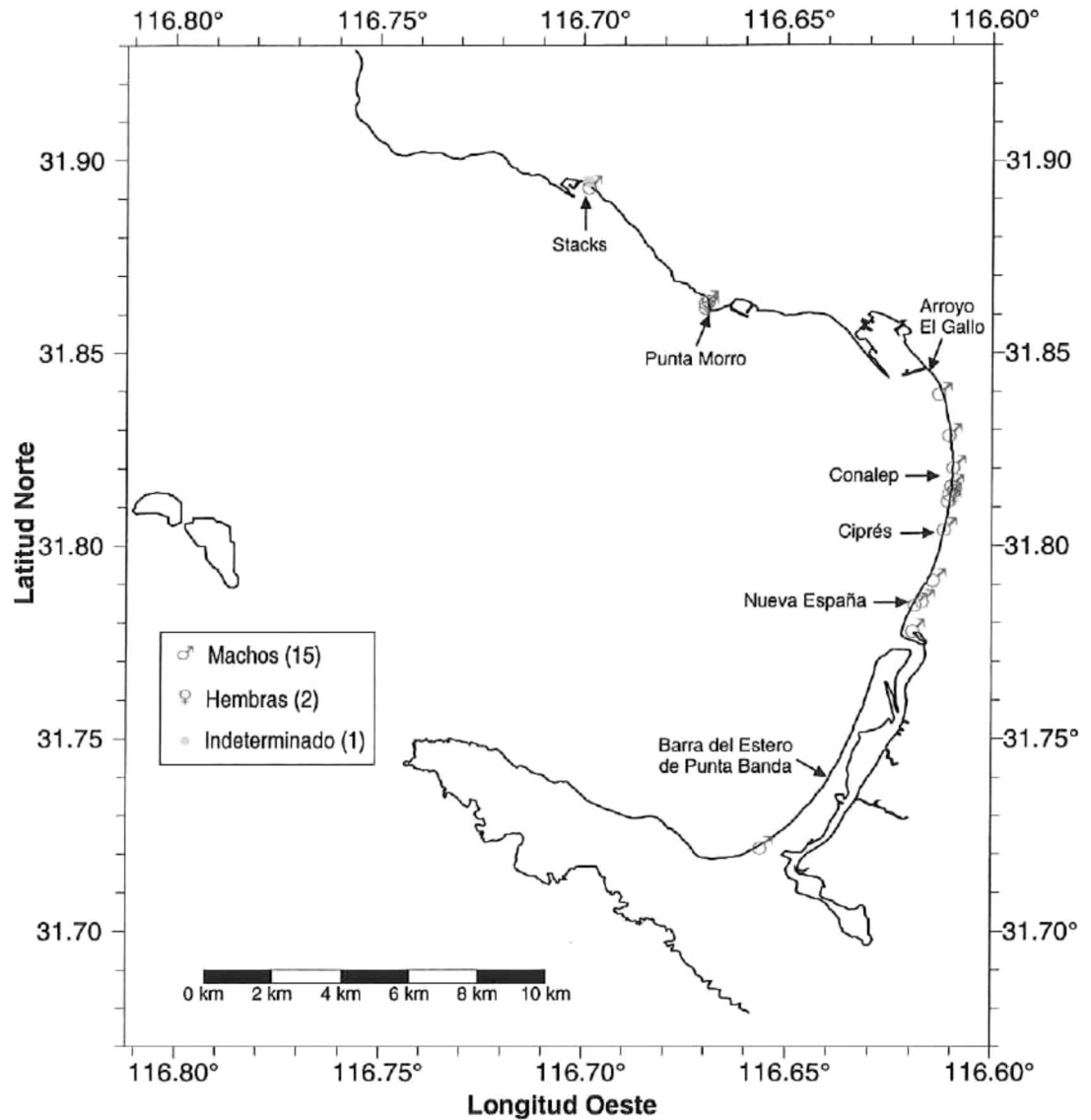


Figura 4. Localización geográfica de los lobos marinos de California varados muertos en la Bahía de Todos Santos, Baja California, de los cuales se tomaron muestras de tejido adiposo subcutáneo.

Tabla V. Datos de las muestras de grasa de lobos marinos de California varados muertos, tomadas de enero de 2000 a noviembre de 2001 en la Bahía de Todos Santos, Baja California.

Muestra	Fecha	Zona	Grupo de edad	Sexo	Longitud (cm)	Espesor de la grasa (cm)	Estado de descomposición	% de Lípidos
1	12/02/0	Ciprés	Adulto	M	205	ND	Avanzado	46
2	19/02/0	Ciprés	Subadulto	M	189	ND	Avanzado	41
3	23/02/0	Nueva España	Subadulto	M	178	ND	Avanzado	59
4	03/03/0	Stacks	Joven	I	126	ND	Incipiente	44
5	24/03/0	Nueva España	Adulto	M	230	1.6	Avanzado	70
6	15/05/0	CONALEP	Adulto	M	223	2.6	Avanzado	81
7	16/05/0	Punta Morro	I	M	ND	ND	Avanzado	67
8	16/05/0	Punta Morro	Adulto	H	190	ND	Avanzado	81
9	01/06/0	Punta Morro	Subadulto	M	200	1.9	Avanzado	81
10	13/09/0	Ciprés	Adulto	M	230	0.5	Avanzado	41
11	14/09/0	Arroyo el Gallo	Adulto	M	230	1.9	Avanzado	25
12	16/09/0	CONALEP	Adulto	M	250	3	Incipiente	57
13	31/01/0	CONALEP	Adulto	H	191	ND	Avanzado	86
14	31/01/0	CONALEP	Adulto	M	230	0.2	Avanzado	50
15	04/03/0	Ciprés	Adulto	M	217	2.8	Incipiente	81
16	03/06/0	Barra del Estero	Adulto	M	223	3.1	Recién muerto	91
17	13/11/0	Stacks	Adulto	M	215	ND	Avanzado	47
18	16/11/0	Nueva España	Adulto	M	220	1.6	Avanzado	64

I = Indeterminado, M = Macho,

H = Hembra, ND = No detectado.

Análisis de laboratorio

Pesticidas

En las muestras de lobo marino (Fig. 5) se identificaron 19 de los 20 pesticidas presentes en las mezclas de estándares utilizadas (Figs. 4a y 4b). La concentración de los compuestos para cada una de las muestras se muestra en la tabla VI. Para resumir la información, en la figura 6 se presenta la concentración promedio (media aritmética) y el error estándar de la concentración de los pesticidas en todas las muestras analizadas.

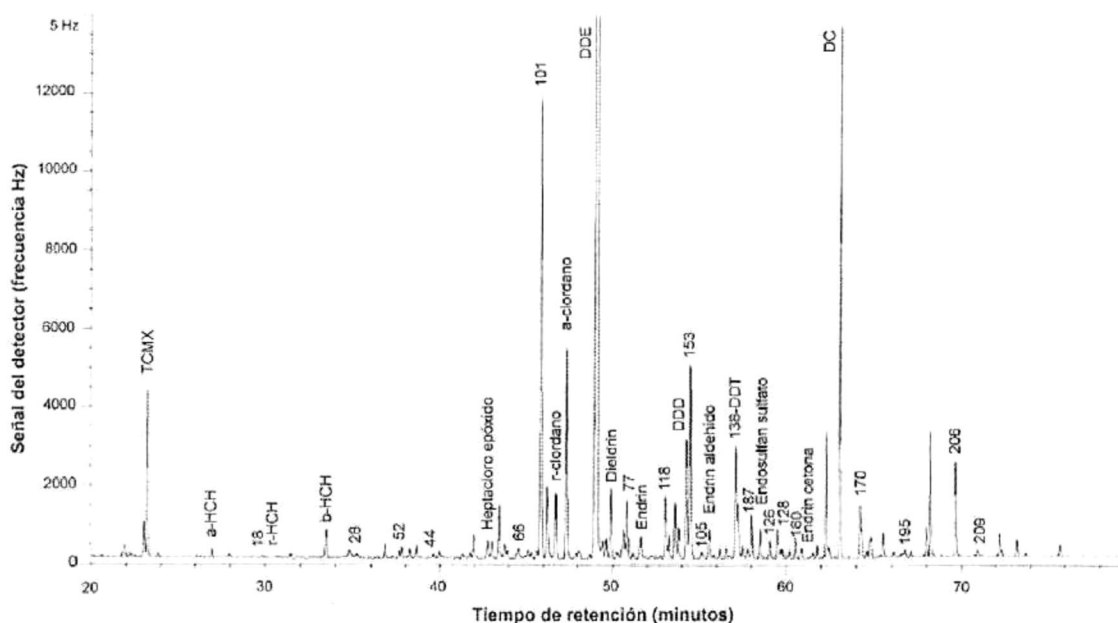


Figura 5. Cromatograma del contenido de pesticidas y bifenilos policlorados (BPCs) en una muestra de grasa de lobo marino (especimen # 17) varado en la Bahía Todos Santos.

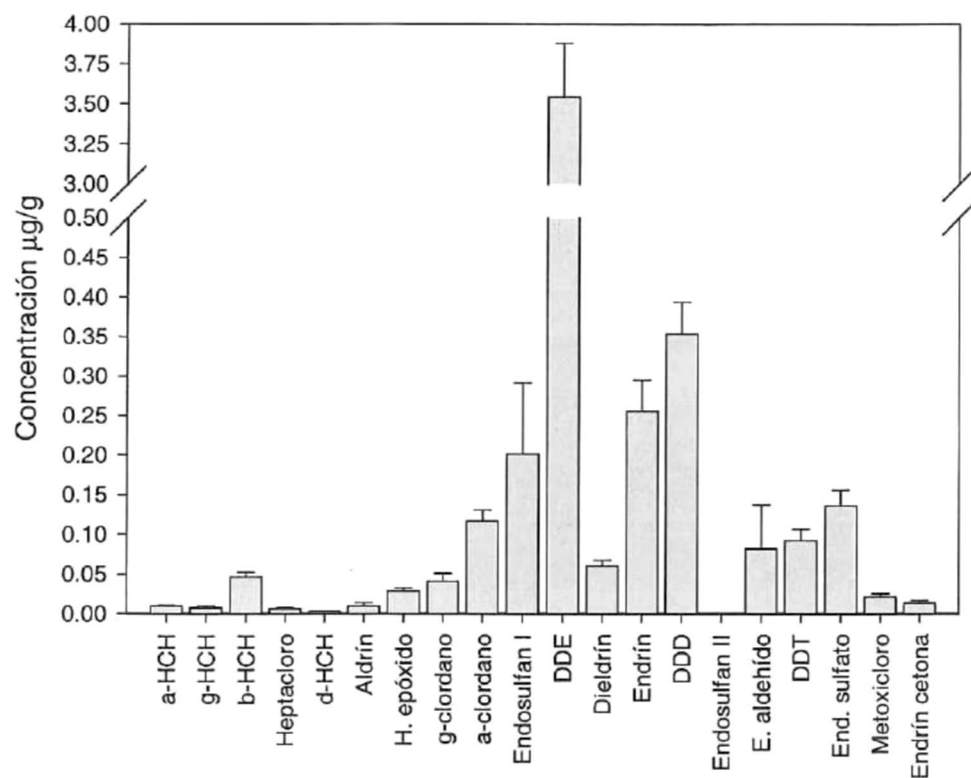


Figura 6. Concentración promedio (media aritmética) en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico de los pesticidas cuantificados en 18 muestras.

Tabla VI. Concentración en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico de los pesticidas identificados y cuantificados en las muestras de grasa de lobo marino.

ND = No detectable por el cromatógrafo,

* = Compuesto afectado por el tratamiento ácido (más del 30%), de tal forma que su concentración fue no detectable o está subestimada.

Muestra	α -HCH	β -HCH	γ -HCH	δ -HCH	Aldrín	*Dieldrín	*Endrín	*E. aldehído	E. cetona	DDE
1	0.010	0.057	0.004	ND	ND	0.057	0.185	0.012	ND	3.817
2	0.011	0.024	0.003	ND	ND	0.065	0.190	0.011	0.011	4.422
3	0.014	0.009	0.002	ND	0.012	0.059	0.162	ND	0.004	3.590
4	0.008	0.023	0.002	ND	ND	0.142	0.533	0.033	0.030	5.293
5	0.011	0.049	0.009	0.002	ND	0.039	0.202	0.017	0.014	3.064
6	0.007	0.054	0.005	0.002	ND	0.056	0.209	0.154	0.009	2.871
7	0.005	0.037	0.002	ND	ND	0.090	0.396	0.025	0.021	2.758
8	0.015	0.037	0.005	0.003	0.002	0.028	0.078	0.036	ND	1.816
9	0.008	0.068	0.006	ND	ND	0.059	0.229	0.014	0.005	2.934
10	0.009	0.036	0.005	ND	0.015	0.036	0.164	0.009	ND	5.300
11	0.011	0.117	0.010	0.002	ND	0.055	0.240	0.017	0.003	2.814
12	0.013	0.042	0.009	0.002	ND	0.062	0.273	0.014	0.010	2.896
13	0.011	0.055	0.004	ND	ND	0.043	0.174	ND	0.047	2.694
14	0.010	0.061	ND	0.005	ND	ND	0.753	0.898	0.024	7.820
15	0.009	0.061	0.007	ND	ND	0.055	0.228	0.014	0.003	2.826
16	0.004	0.046	0.002	ND	ND	0.035	0.140	0.011	0.007	2.597
17	0.007	0.050	0.002	ND	ND	0.024	0.075	0.012	0.005	2.226
18	0.012	0.005	0.048	ND	ND	0.114	0.364	0.030	0.008	4.032
Media geométrica	0.009	0.038	0.005	0.003	0.007	0.054	0.217	0.024	0.009	3.326

(Continúa en la siguiente página)

Continuación de la tabla VI.

Muestra	DDD	DDT	γ -clordano	α -clordano	Heptacloro	H. epóxido	E. I	*E. II	E. sulfato	*Metoxicloro
1	0.450	0.088	0.021	0.090	ND	0.041	ND	ND	0.007	ND
2	0.408	0.105	0.025	0.101	ND	0.014	ND	ND	0.152	ND
3	0.125	0.009	0.061	0.111	0.006	0.025	0.132	ND	0.204	ND
4	0.474	0.213	0.084	0.243	ND	0.059	ND	ND	0.280	0.029
5	0.293	0.072	0.143	0.143	ND	0.027	ND	ND	0.123	0.025
6	0.371	0.144	0.024	0.115	ND	0.016	0.151	ND	0.183	ND
7	0.500	0.007	0.020	0.171	ND	0.033	ND	ND	0.196	0.038
8	0.029	0.038	0.001	0.042	0.008	0.004	0.0001	ND	0.082	ND
9	0.522	0.111	0.030	0.101	0.004	0.028	ND	ND	0.015	0.014
10	0.310	0.063	0.016	0.067	ND	0.025	ND	ND	0.088	ND
11	0.472	0.089	0.023	0.148	ND	0.044	ND	ND	0.160	0.011
12	0.466	0.137	0.034	0.113	ND	0.028	0.148	ND	0.190	0.020
13	0.372	0.102	0.018	0.081	ND	ND	ND	ND	0.131	0.009
14	0.030	0.017	0.147	ND	ND	0.041	0.637	ND	0.024	ND
15	0.448	0.124	0.027	ND	ND	0.026	0.139	ND	0.164	0.018
16	0.271	0.077	0.016	0.066	ND	0.016	ND	ND	0.100	0.004
17	0.178	0.037	0.010	0.070	ND	0.017	ND	ND	0.049	ND
18	0.634	0.225	0.036	0.209	ND	0.043	ND	ND	0.296	0.043
Media geométrica	0.277	0.066	0.025	0.106	0.006	0.025	0.056	*	0.097	0.017

ND No detectable por el cromatógrafo.

* Compuesto afectado por el tratamiento ácido (más del 30%), de tal forma que su concentración fue no detectable o está subestimada.

A pesar de determinar que tres de los ciclodienos analizados (endrín, dieldrín y endrín aldehído) se degradaron más de 30% durante el tratamiento con ácido sulfúrico (Tabla III), estos compuestos fueron detectados en la mayoría de las muestras (Tabla VI). Lo anterior sugiere una subestimación de la concentración cuantificada o la coelución con otros compuestos, lo que resulta en una identificación dudosa. Por lo tanto, dichas concentraciones no fueron consideradas en la determinación del intervalo de concentración para este grupo de pesticidas.

En todas las muestras, el pesticida más abundante fue el DDE con una concentración media de $3.33 \mu\text{g/g}$ de peso lipídico, seguido por el DDD con $0.28 \mu\text{g/g}$ de lípidos.

En la figura 7 se muestra la correlación entre 4 de las muestras analizadas por su contenido de pesticidas y la media geométrica de todas las muestras.

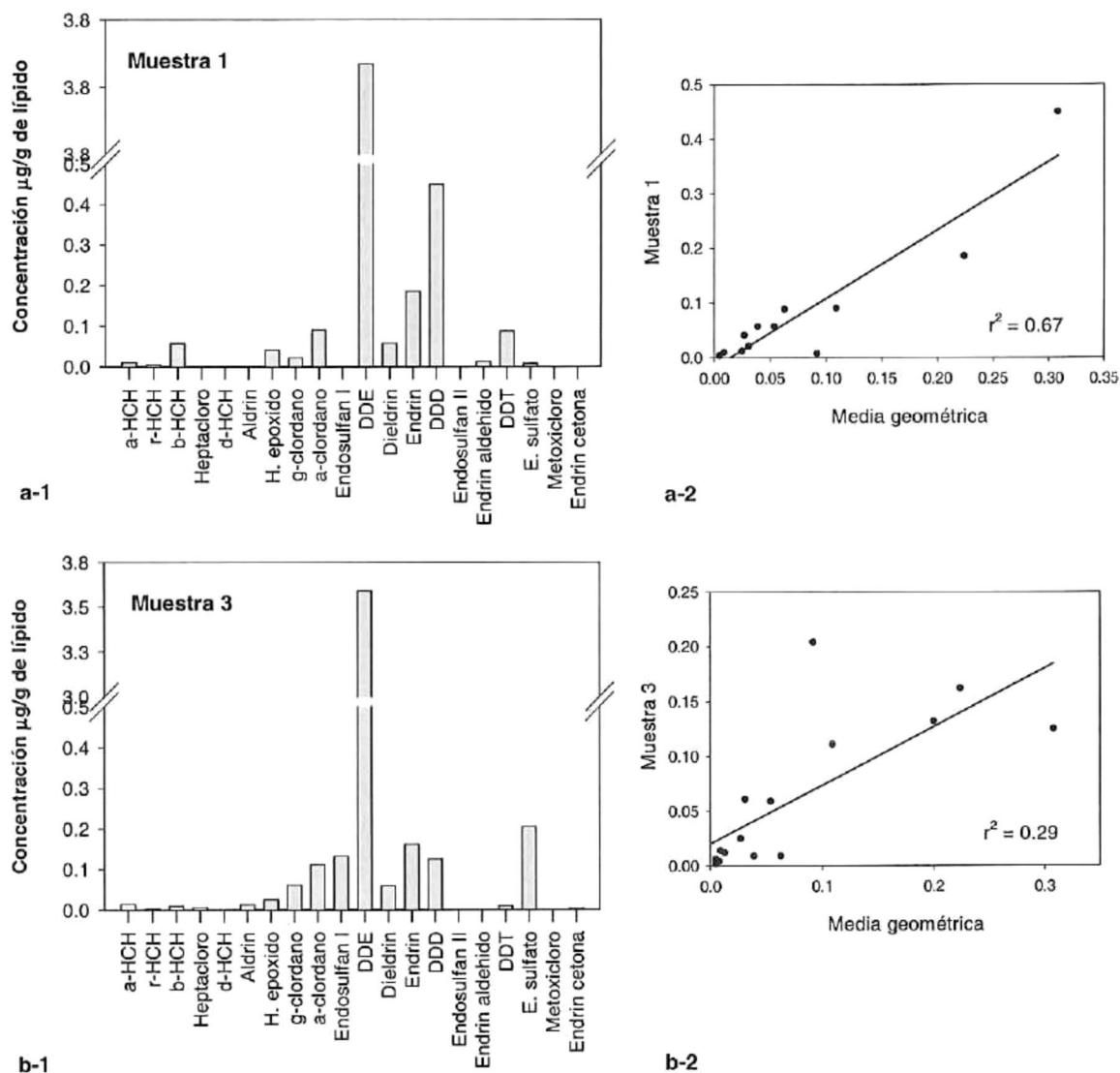
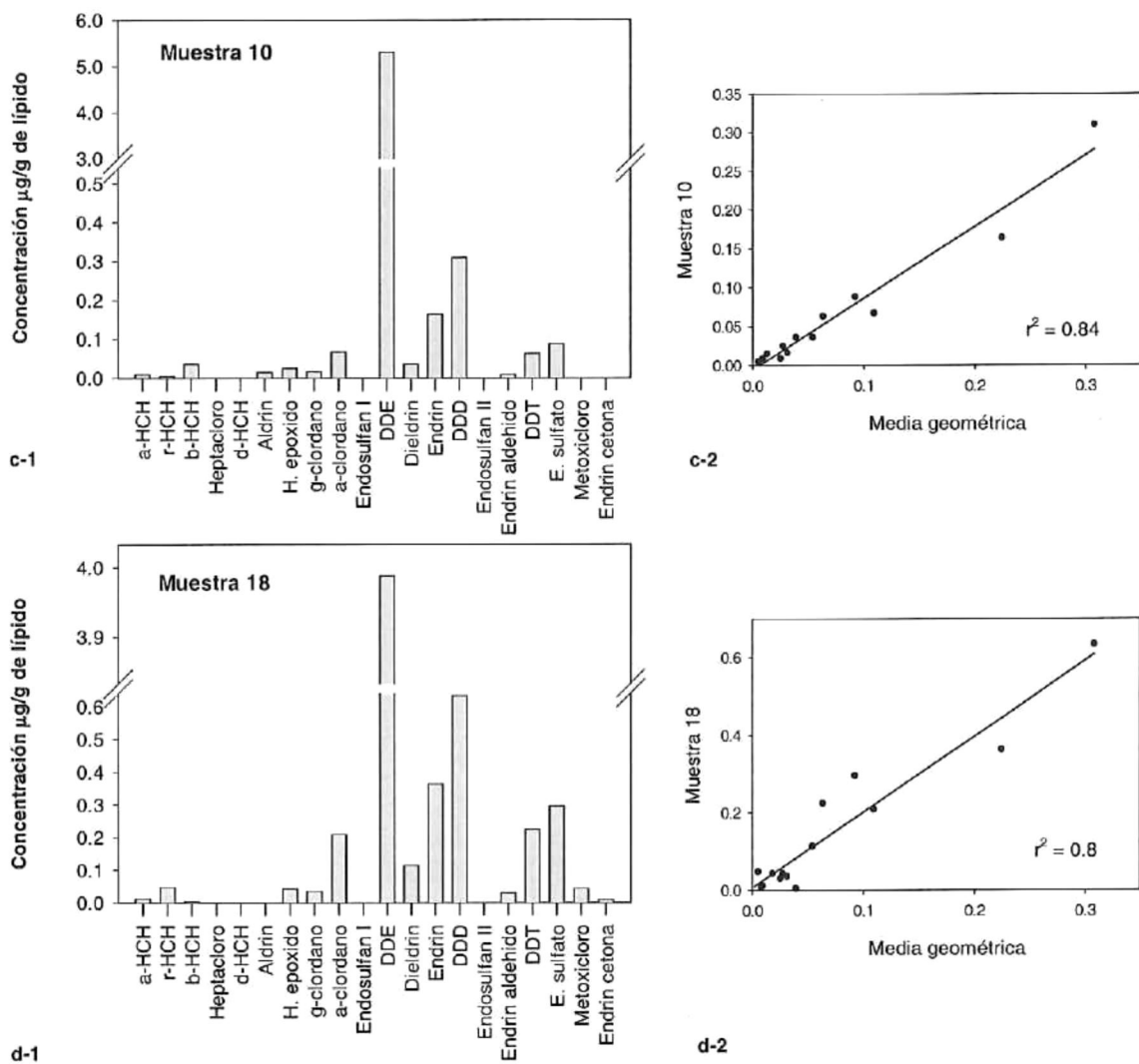


Figura 7. Concentración de pesticidas en las muestras 1, 3, 10 y 18 (a, b, c y d-1 respectivamente) y la correspondiente correlación entre dichas muestras y la media geométrica a partir de todas las muestras, sin tomar en cuenta al DDE (a, b, c y d-2).

(Continúa en la siguiente página)



Continuación de la figura 7.

En la tabla VII se presentan las correlaciones entre muestras por su contenido de pesticidas. En la figura 8 se puede observar el grado de similitud entre las muestras.

Tabla VII. Matriz de correlación (r) entre las muestras analizadas, por su contenido de pesticidas (sin tomar en cuenta al DDE). Las correlaciones en color negro son significativas a $p < 0.05$.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	MG
1	1.00	0.94	0.42	0.80	0.85	0.81	0.88	0.34	1.00	0.96	0.95	0.89	0.94	0.04	0.88	0.94	0.95	0.90	0.91
2		1.00	0.63	0.90	0.91	0.89	0.94	0.55	0.94	0.99	0.98	0.96	0.99	0.03	0.92	0.99	0.96	0.99	0.95
3			1.00	0.73	0.67	0.70	0.70	0.67	0.43	0.59	0.61	0.74	0.59	0.27	0.65	0.61	0.56	0.66	0.73
4				1.00	0.91	0.82	0.93	0.74	0.81	0.89	0.88	0.88	0.88	0.19	0.81	0.90	0.84	0.94	0.94
5					1.00	0.79	0.91	0.56	0.86	0.91	0.92	0.87	0.90	0.08	0.80	0.92	0.90	0.91	0.91
6						1.00	0.83	0.61	0.82	0.87	0.87	0.94	0.87	0.39	0.91	0.89	0.85	0.88	0.91
7							1.00	0.61	0.89	0.95	0.95	0.91	0.92	0.17	0.86	0.94	0.91	0.94	0.97
8								1.00	0.35	0.52	0.57	0.54	0.53	0.29	0.46	0.58	0.53	0.61	0.60
9									1.00	0.97	0.95	0.90	0.95	0.06	0.89	0.95	0.95	0.90	0.91
10										1.00	0.99	0.95	0.98	0.07	0.93	0.99	0.97	0.97	0.96
11											1.00	0.94	0.98	0.04	0.90	0.99	0.99	0.95	0.95
12												1.00	0.95	0.19	0.97	0.95	0.91	0.95	0.97
13													1.00	0.00	0.93	0.99	0.96	0.97	0.93
14														1.00	0.19	0.05	0.00	0.04	0.25
15															1.00	0.93	0.86	0.90	0.92
16																1.00	0.97	0.98	0.95
17																	1.00	0.93	0.92
18																		1.00	0.95
MG																			1.00

MG = Media geométrica

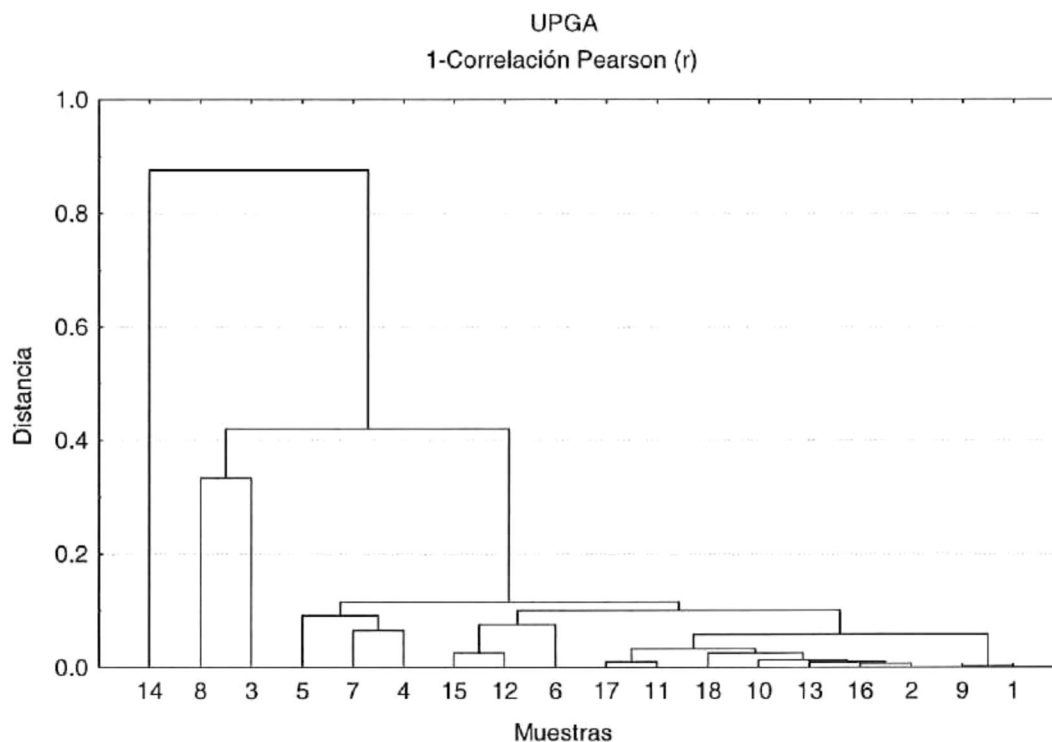


Figura 8. Dendrograma de las muestras analizadas por su contenido de pesticidas.

En la tabla VII se observa que la muestra 14 no se correlaciona significativamente con ninguna de las demás muestras, esto indica que por su contenido relativo de pesticidas es la muestra más diferente a todas. Por otro lado, el dendrograma en la figura 8, indica que además de la muestra 14, las muestras 8, 3, 5 y 7, presentaron bajo grado de similitud con respecto a las demás, en cuanto a su contenido relativo de pesticidas. Por esta razón, dichas muestras no se tomaron en cuenta para hacer comparaciones con estudios previos. De las muestras correspondientes a hembras, únicamente la # 8 entra en el grupo de muestras con bajo grado de correlación.

Por otro lado, se graficó la suma de pesticidas identificados en todas las muestras

(Fig. 9).

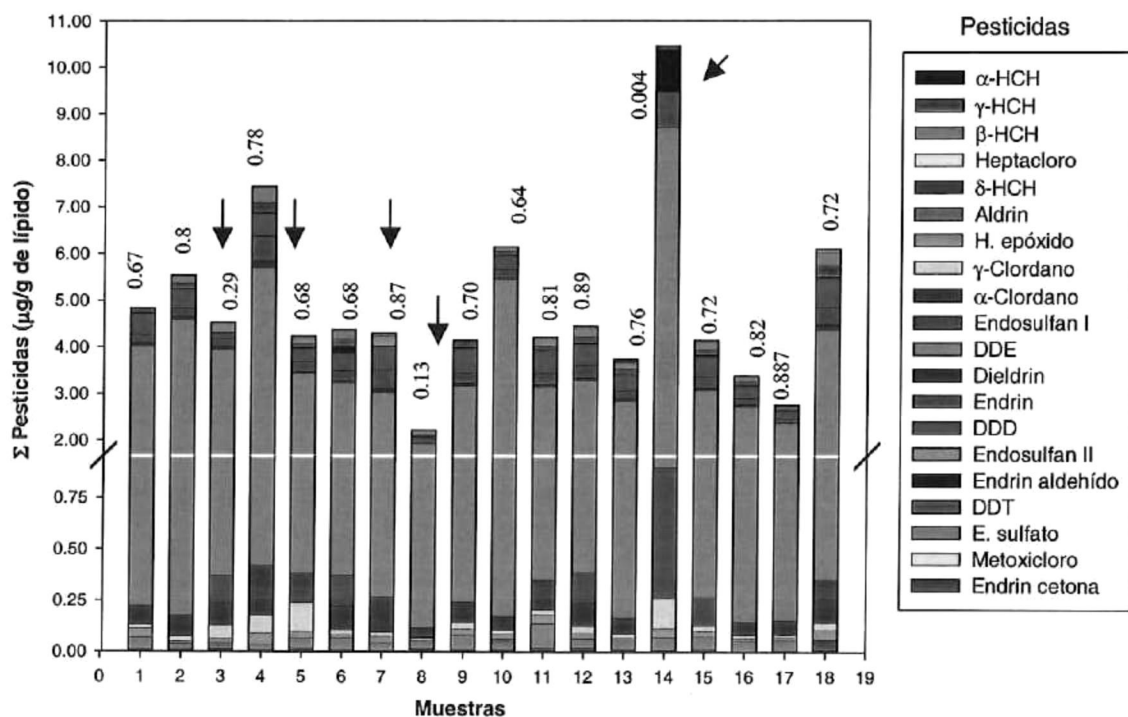


Figura 9. Suma de todos los pesticidas en cada muestra y el correspondiente coeficiente de determinación (en la parte superior de cada columna). Las flechas indican muestras no incluidas en análisis posteriores por su bajo grado de correlación.

Para facilitar la discusión de los resultados, se clasificó a los pesticidas en grupos de acuerdo con su estructura molecular (compuestos principales y sus metabolitos o isómeros, Tabla VIII). Solamente se calcularon los intervalos de concentración por grupo en las muestras con alto grado de correlación. Asimismo, se graficó la composición (%) de dichos grupos (Fig. 10).

De todos los pesticidas y sus metabolitos cuantificados, el DDE fue el más abundante en las 13 muestras. Este compuesto representa 77% de Σ pesticidas y presentó

una concentración media de 3.3 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico (tabla VIII). El siguiente analito más abundante en promedio fue el DDD, con un porcentaje de 9% y una media geométrica de 0.4 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico. Los demás pesticidas presentaron diferentes concentraciones, pero todas estuvieron por debajo de 0.15 $\mu\text{g/g}$ de lípidos o menos de 3.4% de la concentración promedio.

Tabla VIII. Composición (%) de los pesticidas agrupados por isómeros en las 13 muestras con alto grado de correlación, y los correspondientes intervalos de concentración (en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico).

Pesticidas	Proporción (%) en Σ pesticidas	Media geométrica	Proporción (%) en el grupo	Intervalos de concentración
α -HCH	0.2	0.01	15	Σ HCHs (0.03 a 0.14)
β -HCH	0.9	0.04	72	
γ -HCH	0.1	0.01	9	
δ -HCH	0.05	<0.01	4	
DDE	77.1	3.31	87	Σ DDTs (2.44 a 5.98)
DDD	9.2	0.4	10	
DDT	2.4	0.11	3	
Aldrín	0.3	0.02	64	Σ Ciclodienos (0.003 a 0.05)
Endrín cetona	0.2	0.01	36	
γ -clordano	0.6	0.03	6	Σ Ciclodienos clordanos (0.15 a 0.67)
α -clordano	2.5	0.11	26	
Heptacloro	0.1	<0.01	1	
Heptacloro epóxido	0.6	0.03	7	
Endosulfán I	3.4	0.15	36	
Endosulfán II	*	*	*	
Endosulfán sulfato	2.2	0.1	24	

* No detectado.

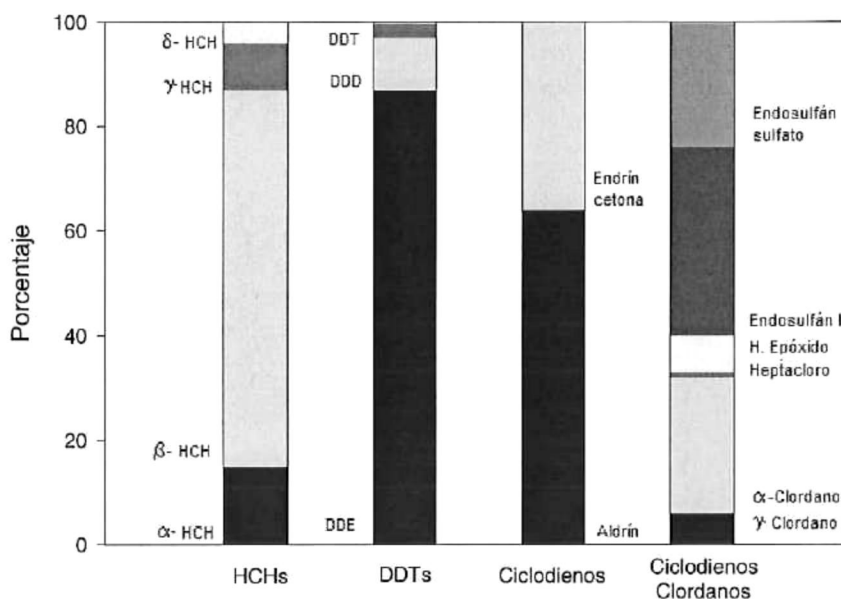


Figura 10. Composición (%) de los pesticidas en 13 muestras de lobos marinos.

De los hexaclorociclohexanos (HCHs) el más abundante fue el isómero β , cuya concentración media fue de $0.04 \mu\text{g/g}$ de peso lipídico. El intervalo de concentración determinado para este grupo fue el más pequeño, y estuvo entre 0.03 y $0.14 \mu\text{g/g}$ de lípidos (Tabla VIII, Fig. 10). En cuanto a los DDTs, el metabolito más abundante fue el DDE, ya que representó 87% del grupo con una concentración media de $3.3 \mu\text{g/g}$ de peso lipídico, mientras que el DDT fue el menos abundante con sólo 3% ($0.1 \mu\text{g/g}$ de lípidos). El intervalo de concentración más amplio de todos los grupos fue el encontrado para este grupo (2.44 a $5.98 \mu\text{g/g}$ de peso lipídico).

Bifenilos policlorados

En las muestras de lobo analizadas, se identificaron los 19 congéneres presentes en el estándar externo (Fig. 4c), cuyas concentraciones se presentan en la Tabla IX. El intervalo de concentración media encontrado para Σ BPCs en todas las muestras está entre 1.2 y 9.5 $\mu\text{g/g}$ de lípidos con una media de 2.56 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico. En la figura 11 se presenta la concentración promedio y el error estándar correspondiente a cada compuesto en todas las muestras analizadas. Esta figura muestra que, en promedio, el BPC 153 fue el congénere más abundante en todas las muestras analizadas.

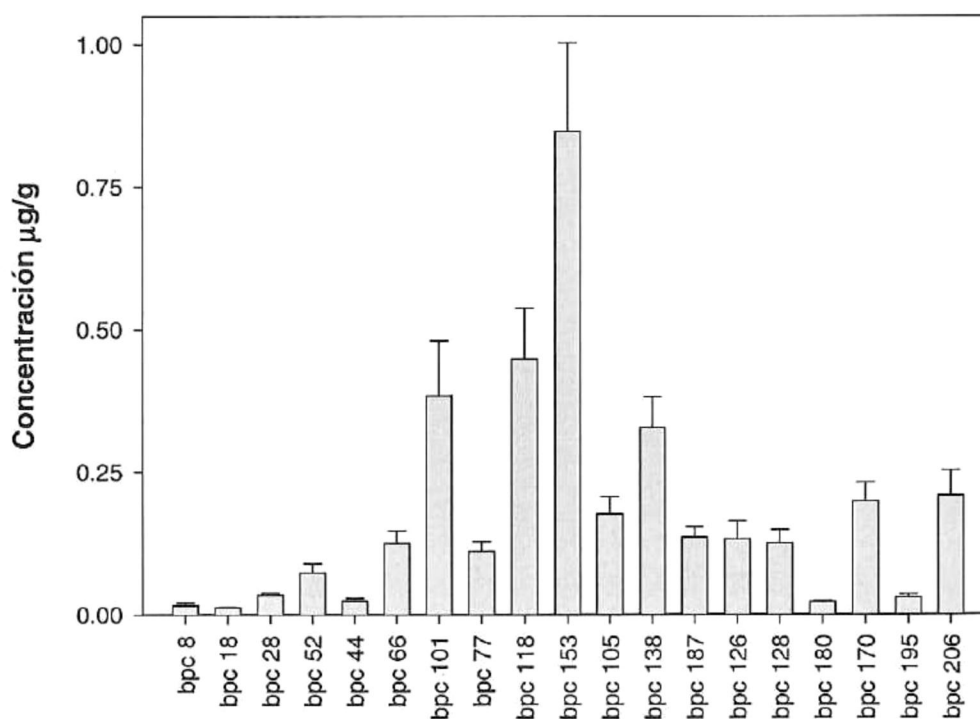


Figura 11. Concentración promedio (media aritmética) en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico de los BPCs cuantificados en 18 muestras.

Tabla IX. Concentración de BPCs en 18 muestras de grasa de lobo marino ($\mu\text{g/g}$ de peso lipídico).

ND = No detectable.

BPC	MUESTRAS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8	0.005	0.006	0.005	0.009	0.034	0.007	ND	0.061	0.020
18	0.011	0.015	0.005	0.012	0.019	0.011	0.008	0.012	0.009
28	0.034	0.042	0.031	0.060	0.049	0.023	0.036	0.037	0.019
52	0.069	0.048	0.143	0.017	0.054	0.057	0.053	0.017	0.079
44	0.004	0.019	0.025	0.005	0.022	0.024	0.009	0.021	0.036
66	0.103	0.121	0.105	0.290	0.082	0.097	0.176	0.026	0.120
101	0.278	0.330	0.782	0.330	0.021	0.311	0.258	0.013	0.382
77	0.070	0.068	0.083	0.200	0.181	0.102	0.186	0.141	0.080
118	0.349	0.411	0.386	0.972	0.233	0.303	0.543	0.129	0.346
153	0.654	0.753	0.130	1.588	0.405	0.833	0.950	0.207	0.687
105	0.152	0.210	ND	0.527	0.122	0.146	0.291	0.007	0.168
138	0.311	0.370	0.028	0.767	0.256	0.518	0.019	0.132	0.398
187	0.126	0.173	0.025	0.341	0.093	0.145	0.243	0.052	0.143
126	0.011	0.034	0.345	0.024	0.447	0.084	0.188	0.240	0.063
128	0.099	0.116	0.005	0.265	0.068	0.118	0.147	0.039	0.113
180	0.022	0.018	0.020	0.042	0.013	0.024	0.020	0.042	0.014
170	0.129	0.263	0.151	0.489	0.119	0.178	0.218	0.065	0.147
195	0.023	0.032	0.025	0.058	0.013	0.035	0.035	0.004	0.025
206	0.134	0.214	0.226	0.683	0.124	0.155	0.005	0.003	0.177
ΣBPC's	2.58	3.24	2.52	6.68	2.35	3.17	3.39	1.25	3.03

(Continúa en la siguiente página)

Continuación de la tabla IX.

BPC	Muestra									Media geométrica
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
8	0.017	0.008	ND	ND	ND	ND	ND	0.005	ND	0.01
18	0.013	0.017	0.008	0.024	0.017	0.021	0.002	0.009	0.008	0.01
28	0.049	0.046	0.033	0.039	0.038	0.040	0.012	0.023	0.011	0.03
52	0.054	0.077	0.073	0.044	0.315	0.064	0.037	0.029	0.093	0.05
44	0.013	0.041	0.027	0.015	0.093	0.025	0.013	0.009	0.027	0.02
66	0.074	0.089	0.130	0.075	0.400	0.114	0.060	0.042	0.155	0.10
101	0.221	0.300	0.440	0.238	1.862	0.344	0.213	0.134	0.460	0.29
77	0.069	0.069	0.106	0.057	0.305	0.109	0.046	0.008	ND	0.07
118	0.218	0.320	0.405	0.291	1.749	0.382	0.218	0.142	0.667	0.34
153	0.506	0.638	1.001	0.633	2.910	0.835	0.494	0.304	1.733	0.74
105	0.082	0.152	0.195	0.112	ND	0.173	0.103	0.069	0.314	0.16
138	0.214	0.317	0.495	0.366	0.056	0.446	0.275	0.130	0.813	0.37
187	0.095	0.114	0.143	0.121	0.086	0.146	0.089	0.048	0.257	0.13
126	0.026	0.304	0.118	0.046	0.088	0.094	ND	0.051	0.094	0.06
128	0.060	0.090	0.132	0.096	0.438	0.115	0.076	0.039	0.238	0.11
180	0.013	0.033	0.022	0.018	ND	0.022	0.014	0.007	0.035	0.02
170	0.073	0.125	0.212	0.131	0.551	0.174	0.090	0.081	0.381	0.16
195	0.011	0.019	0.031	0.015	0.095	0.027	0.019	0.008	0.064	0.02
206	0.087	0.008	0.245	0.248	0.546	0.218	0.109	0.083	0.490	0.15
ΣBPC's	1.9	2.77	3.82	2.57	9.55	3.35	1.87	1.22	5.84	2.56

ND No detectable.

En la figura 12 se presenta la correlación entre la media geométrica de las concentraciones de BPCs en las 18 muestras y los datos de cuatro muestras. (#1, 3, 10 y 18).

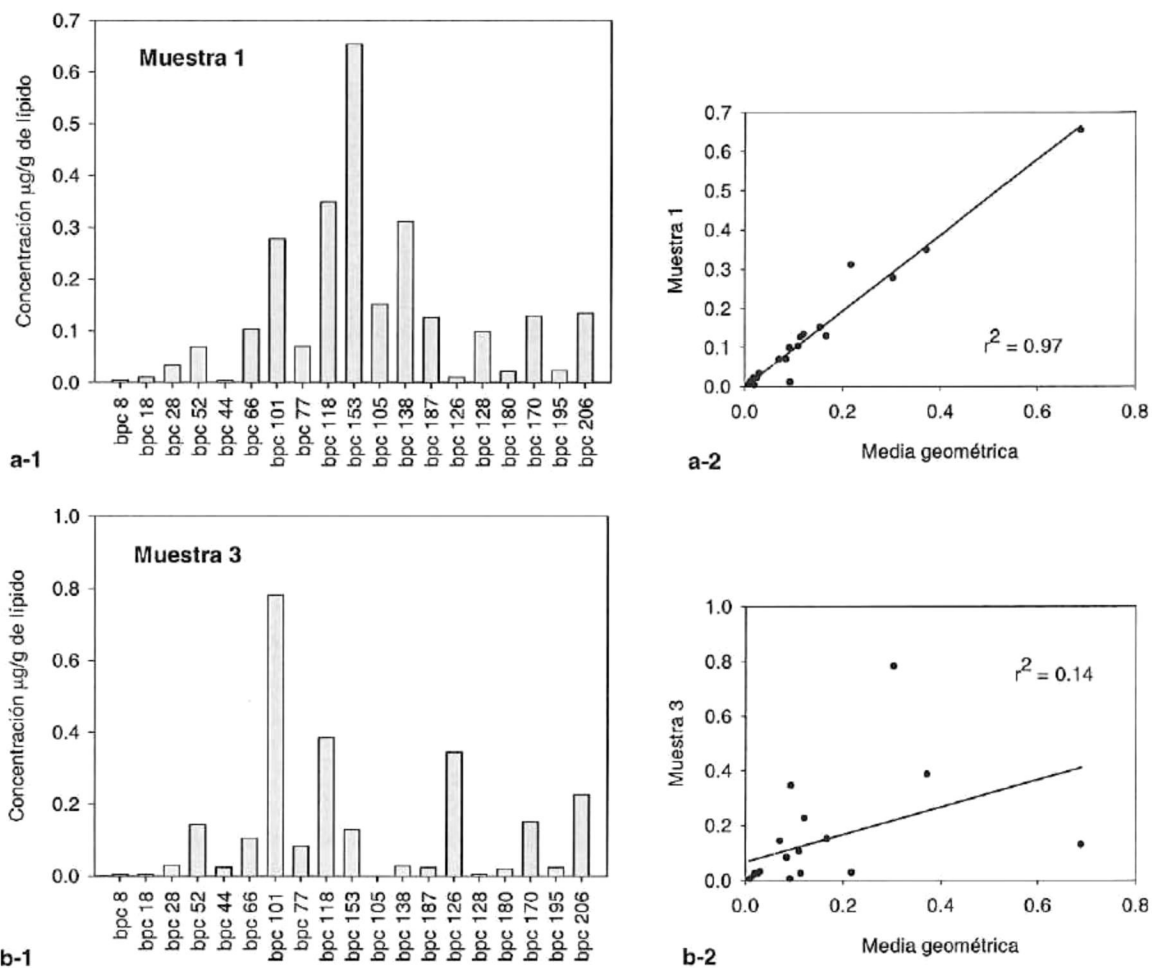
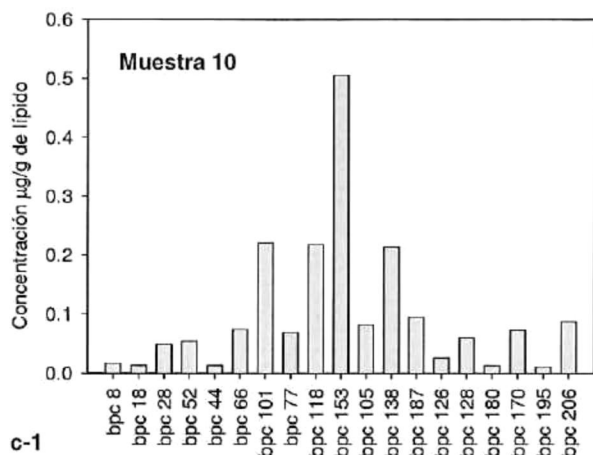
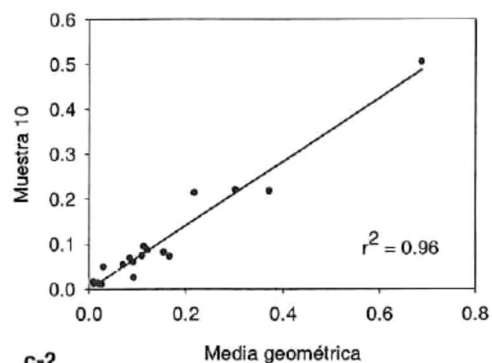


Figura 12. Concentración de BPCs en las muestras 1, 3, 10 y 18 (a, b, c y d-1 respectivamente) y la correspondiente correlación entre ellas y la media geométrica a partir de todas las muestras (a, b, c y d-2).

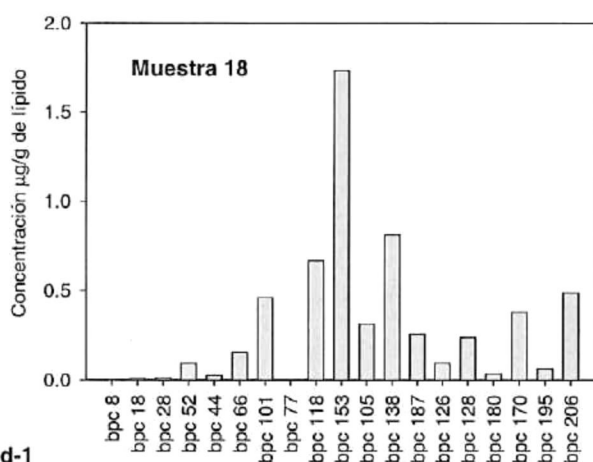
(Continúa en la siguiente página)



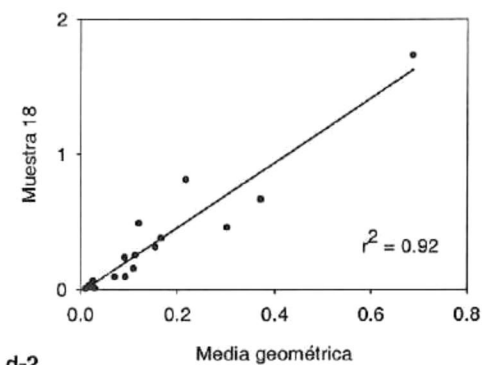
c-1



c-2



d-1



d-2

Continuación de la figura 12.

En el caso de los BPCs, 14 de las 18 muestras presentaron un valor de r^2 mayor que 0.82, esto indica que la mayoría de las muestras presentó un patrón similar de distribución de BPCs. Cuatro de las muestras presentaron una r^2 menor que 0.43, con un mínimo de 0.03 (Figura 14). Se obtuvo también una matriz de correlación entre las muestras analizadas para verificar su parecido en la proporción de estos compuestos (Tabla X), así como el correspondiente análisis de grupos (dendrograma con UPGA y 1-r de Pearson) (Fig. 13).

Tabla X. Matriz de correlación (r) por el contenido de BPCs entre las muestras analizadas. Las correlaciones en color negro son significativas a $p < 0.05$.

	1	2	3	4	5	6	*7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	MG
1	1.00	0.99	0.35	0.95	0.58	0.97	0.17	0.47	0.99	0.99	0.89	0.98	0.97	0.88	0.99	0.99	0.98	0.97	0.98
2		1.00	0.36	0.96	0.58	0.96	0.19	0.46	0.98	0.97	0.88	0.98	0.97	0.86	0.98	0.98	0.98	0.97	0.98
3			1.00	0.21	0.22	0.28	0.15	0.18	0.42	0.36	0.44	0.37	0.31	0.58	0.35	0.32	0.41	0.24	0.37
4				1.00	0.61	0.91	0.18	0.46	0.92	0.91	0.79	0.93	0.96	0.78	0.94	0.93	0.93	0.96	0.94
5					1.00	0.65	0.15	0.93	0.59	0.59	0.79	0.64	0.62	0.44	0.65	0.57	0.65	0.63	0.65
6						1.00	0.17	0.56	0.98	0.97	0.91	0.99	0.98	0.79	0.99	0.99	0.96	0.98	0.95
*7							1.00	0.00	0.17	0.15	0.18	0.18	0.19	0.14	0.19	0.17	0.17	0.16	0.17
8								1.00	0.48	0.51	0.72	0.53	0.49	0.39	0.54	0.47	0.52	0.49	0.56
9									1.00	0.98	0.91	0.99	0.97	0.86	0.99	0.99	0.98	0.96	0.96
10										1.00	0.91	0.99	0.96	0.89	0.99	0.98	0.97	0.96	0.98
11											1.00	0.92	0.86	0.80	0.91	0.89	0.92	0.87	0.92
12												1.00	0.98	0.86	1.00	0.99	0.99	0.98	0.97
13													1.00	0.81	0.99	0.98	0.97	0.99	0.95
14														1.00	0.85	0.84	0.88	0.82	0.91
15															1.00	0.99	0.99	0.98	0.98
16																1.00	0.97	0.98	0.96
17																	1.00	0.98	0.98
18																		1.00	0.96
MG																			1.00

* Correlaciones negativas.

MG = Media geométrica.

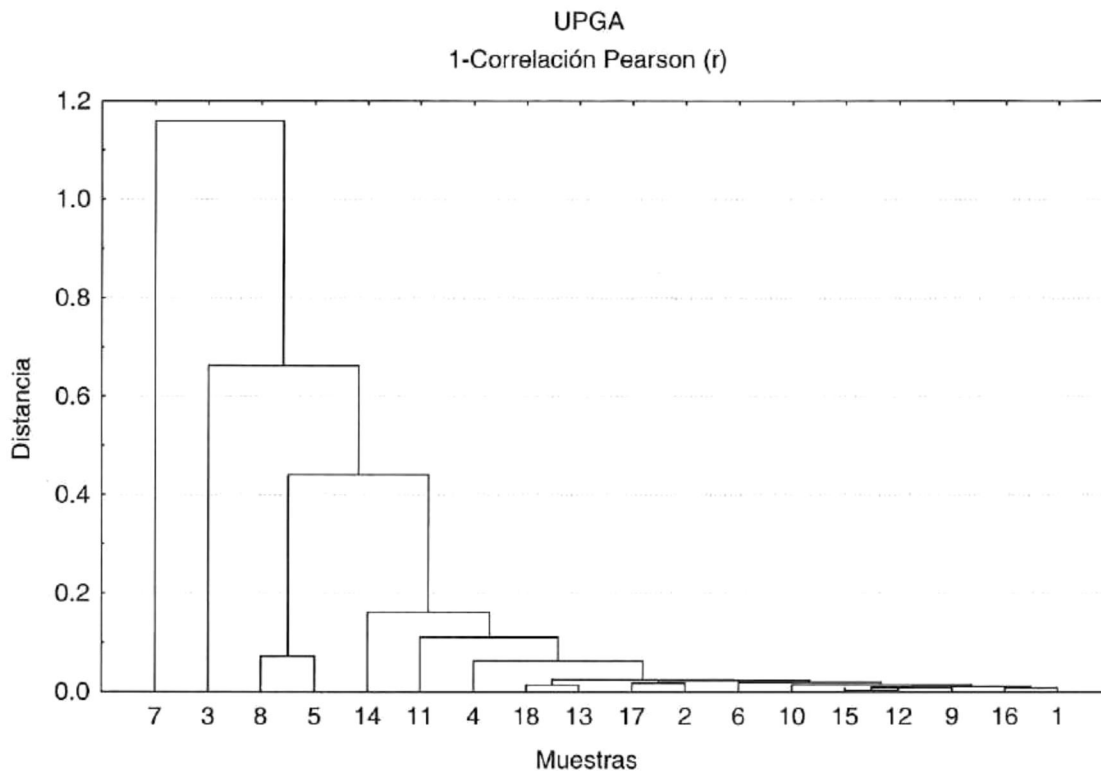


Figura 13. Dendrograma de las muestras analizadas por su contenido de BPCs.

En la tabla X se puede observar que la muestra 7 presentó correlaciones negativas con respecto a todas las demás muestras, el valor de r^2 encontrado para esta muestra (con respecto al promedio) fue el más bajo (.03). La muestra 3 solo se correlaciona significativamente con la muestra 14, que es la más diferente en cuanto a su contenido de pesticidas.

En el dendrograma (Figura 13) se puede observar que las muestras que presentaron menor similitud en su contenido de BPCs (7, 3, 8, 5 y 14) fueron las mismas que para los pesticidas. Debido a lo anterior, los datos generados sobre el contenido de BPCs en dichas muestras, también fueron eliminados para análisis posteriores.

En la figura 14, se presenta el valor de Σ BPCs encontrado en cada muestra analizada.

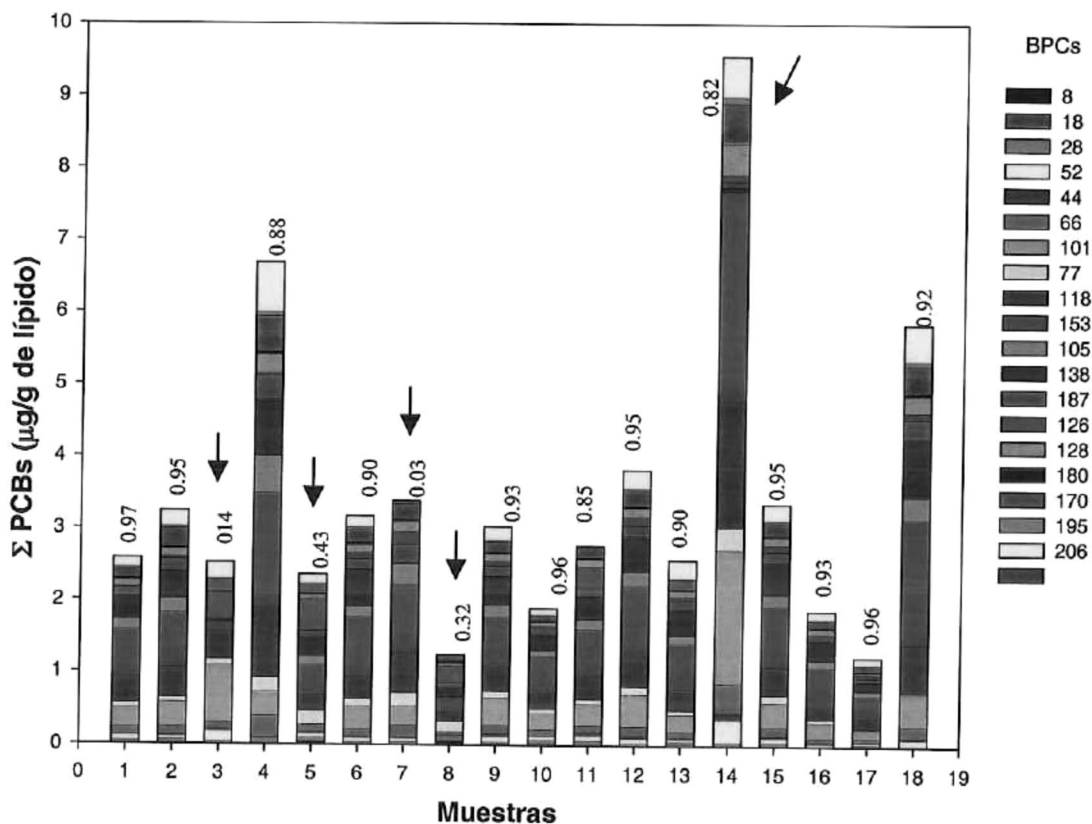


Figura 14. Suma de BPCs en cada muestra y el correspondiente coeficiente de determinación (en la parte superior de cada columna). Las flechas indican muestras eliminadas en análisis posteriores por su bajo grado de correlación con las demás.

La tabla XI contiene la concentración media (geométrica) y el porcentaje correspondiente de los congéneres de BPCs únicamente en las 13 muestras que presentaron niveles altos de correlación y r^2 . La concentración de Σ BPCs en dichas muestras se encuentra en el intervalo de 1.2 a 6.7 $\mu\text{g/g}$ de lípidos, y la media geométrica para este intervalo está en 2.85 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico. Los cuatro congéneres más

abundantes también en estas muestras son el 153, el 138, el 118 y el 101 (con concentraciones de 0.74, 0.37, 0.34 y 0.29 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico respectivamente, que corresponden a 26, 13, 12 y 10 por ciento).

Tabla XI. Concentración media (media geométrica en $\mu\text{g/g}$ de lípidos) y porcentaje de BPCs en las 13 muestras de grasa de lobos marinos seleccionadas.

BPC	Media geométrica	%	BPC	Media geométrica	%
8	0.01	0.3	105	0.16	5.6
18	0.01	0.4	138	0.37	13.1
28	0.03	1.0	187	0.13	4.7
52	0.05	1.8	126	0.06	2
44	0.02	0.6	128	0.11	3.7
66	0.10	3.6	180	0.02	0.7
101	0.29	10.2	170	0.16	5.7
77	0.07	2.4	195	0.02	0.9
118	0.34	12.1	206	0.15	5.3
153	0.74	25.9			

Razón BPCs/DDE

Para probar la segunda hipótesis de este estudio, se calculó la razón BPCs/DDE. De acuerdo con los resultados anteriormente reportados para las 13 muestras con alto grado de correlación, la media geométrica de la concentración de BPCs y DDE es de 2.85 y 3.31 $\mu\text{g/g}$ (peso lipídico) respectivamente. Por lo tanto, el valor de la razón BPCs/DDE encontrado en este estudio es 0.86.

DISCUSIÓN

Homogeneidad de las muestras

Los especímenes muestreados en este trabajo presentaron una excelente oportunidad para hacer un estudio sobre contaminación por HCs en la población a la que pertenecen, ya que permitieron reducir los factores que inducen la variabilidad intraespecífica en el contenido de estos contaminantes (Aguilar *et al.*, 1999).

La mayoría de los varamientos registrados ocurrió entre el arroyo El Gallo y la colonia Nueva España. Bravo (2003) menciona que la alta frecuencia de varamientos en esta zona se debe principalmente a que las condiciones que presenta (playa amplia con sustrato arenoso y pendiente suave) favorecen el depósito y alojamiento de los organismos por más tiempo. Por otro lado, sólo dos de los organismos encontrados durante el muestreo fueron hembras. Bravo (2003) encontró que el 70% de los lobos marinos varados entre 1998 y 2001, muertos por causas antropogénicas, fueron machos; atribuye este porcentaje a que los machos interactúan más con pesquerías que hembras. Además explica la mayor abundancia de machos varados, por la ausencia de loberas reproductivas en la Bahía de Todos Santos, que es donde se encuentra la mayoría de las hembras.

Una de las biopsias pertenecientes a hembras (#13) resultó altamente correlacionada con el promedio de todas las muestras, tanto por su contenido de pesticidas como de BPCs, por lo tanto, los datos de esta muestra fueron incluidos para hacer el análisis comparativo con otros trabajos. Lo anterior sugiere que las diferencias

atribuidas al género (Aguilar, 1999) pueden ser disipadas en animales varados ya que la composición química de algunos contaminantes se puede ver alterada *post mortem*. La preservación de muestras para estudios de contaminación tomadas a partir de mamíferos marinos varados muertos, tiene tres períodos críticos: del tiempo de muerte al tiempo en que el animal es muestreado, del tiempo de colecta al de almacenamiento y del almacenamiento al análisis de laboratorio. Lo óptimo es acortar esos tiempos y mantener una temperatura de almacenamiento lo suficientemente baja (EPA, 1994). La mayor fuente de variación en las muestras de este trabajo, posiblemente se deba al tiempo ocurrido entre la muerte de los organismos y el muestreo. Todos los especímenes recolectados, excepto tres (12, 15 y 16), presentaron avanzado estado de descomposición, pero el grosor de la capa de grasa fue muy variable, probablemente por la emaciación y/o descomposición de los organismos (Tabla V). Sólo el organismo recién muerto presentó 91% de lípidos y un espécimen con descomposición avanzada, 25%. Al normalizar concentraciones de HCs por el contenido lipídico, las diferencias entre biopsias asociadas al contenido variable de grasa se minimizan (Phillips, 1995).

El contenido de Σ DDT en todas las muestras varió sólo en un factor de 5 (~2 a ~10 $\mu\text{g/g}$) (Fig. 9). Este intervalo es más estrecho, en contraste con trabajos anteriores sobre diferentes especies de mamíferos marinos en diversas regiones del mundo. Por ejemplo, muestras de tejido adiposo subcutáneo de marsopa común (*Phocoena phocoena*) de Dinamarca, presentaron variaciones de ~8 a ~200 $\mu\text{g/g}$ (Clausen y Andersen, 1988; citado por Aguilar *et al.*, 2002), y Kajiwara *et al.* (2001) reportaron concentraciones de Σ DDT en grasa de lobo marino de California de 13 a 2900 $\mu\text{g/g}$.

La similitud entre las 13 muestras seleccionadas (Figs. 9 y 13), permite utilizar la composición promedio tanto de pesticidas como de BPCs, para hacer comparaciones entre los resultados de éste y otros estudios.

Pesticidas

De los 20 pesticidas incluidos en las mezclas de estándares (Figs. 4a y 4b), 19 fueron identificados y cuantificados en las muestras de grasa de lobo marino (tabla VI). El único pesticida que no se pudo detectar fue el endosulfán II. Lo anterior posiblemente se deba a que las muestras efectivamente no contienen este analito, o bien, a que las concentraciones en las muestras estuvieron por debajo de 5 ng/ml (concentración utilizada para elucidar que 76% de endosulfán II se degrada durante la limpieza con ácido sulfúrico).

Trece de las 18 biopsias analizadas presentaron un patrón de distribución de pesticidas clorados (sin tomar en cuenta al DDE) relativamente similar ($r^2 > 0.7$) (Fig. 9). Las muestras 14, 8, y 3, presentaron los patrones de distribución más diferentes ($r^2 < 0.29$) (Tabla VII), por lo que fueron eliminadas del análisis comparativo con estudios previos. Las muestras 5 y 7 tampoco fueron tomadas en cuenta para dicho análisis porque, a pesar de presentar coeficientes de determinación relativamente altos por su contenido de pesticidas (0.68 y 0.87), presentaron la distribución más variable en cuanto a BPCs (Tabla X, Fig. 13). Es interesante notar que la muestra #14 presentó un patrón peculiar ($r^2 = 0.004$) y simultáneamente el valor más alto de Σ pesticidas (10.5 $\mu\text{g/g}$ de lípidos).

Estos valores se deben probablemente al grado de descomposición y/o emaciación que presentó el organismo, reflejado por el valor mínimo observado en el grosor de la capa de grasa (Tabla V). Además, esta muestra fue distintiva porque, a pesar de presentar los valores máximos de DDE, presentó valores de DDT y DDD mucho menores que los de la media geométrica (Tabla VI).

En cuanto al análisis de pesticidas en las 13 muestras seleccionadas (por presentar correlaciones significativas entre sí, Tabla VII), se encontró que el DDE y el DDD fueron los analitos más abundantes de Σ pesticidas (77% y 9%, respectivamente) (Tabla VIII, Fig. 10). Debido a que tanto el DDE como el DDD son producto de la degradación del DDT (cuyo porcentaje en el grupo fue 3%), la mayor proporción de DDE en las muestras es indicativo de la falta de fuentes recientes de DDT en el ambiente, es decir que la contaminación por este grupo de pesticidas se debió acumular a través de varios años. El DDT es altamente persistente, presenta un nivel de dispersión bajo y un transporte atmosférico relativamente lento (Prudente *et al.*, 1997). Además, tiene un factor de bioacumulación mayor al de otros pesticidas, asociado con una solubilidad menor (Phillips, 1995). Lo anterior, aunado al uso extensivo de DDT en el pasado, resulta en la omnipresencia de este compuesto y sus metabolitos en la biota. En diversos trabajos realizados al rededor del mundo sobre diferentes especies de mamíferos marinos (incluso de distintos niveles tróficos), este grupo de pesticidas es el más abundante, siempre dominado por el DDE. Por ejemplo, marsopas comunes (*Phocoena phocoena*) de aguas escandinavas (Kleivane *et al.*, 1995), diversas especies de odontocetos del Pacífico Norte, del mar de Japón y del Océano Indico (Prudente *et al.*, 1997), así como

de la costa oeste de Norteamérica (Jarman *et al.*, 1996) y balaenoptéridos del Atlántico Norte (Gauthier *et al.*, 1997) presentan concentraciones altas de estos compuestos con respecto a los demás pesticidas, que por lo general son menos reportados y discutidos. Sin embargo, en trabajos donde sí se discute la presencia de otros pesticidas en biopsias de mamíferos marinos, la tendencia de encontrar al isómero β dominante dentro de los HCHs, es general. En el presente estudio, dicho compuesto representa el 72% del grupo (Tabla VIII), mientras que Prudente *et al.* (1997) encuentra dominante a este isómero en diversas especies de odontocetos del Pacífico norte y del Océano Indico. Explica la mayor persistencia de β -HCH por su estabilidad, baja solubilidad en el agua y mayor resistencia a la degradación enzimática.

De Σ ciclodienos (sin tomar en cuenta a los más afectados por el tratamiento ácido: endrín, dieldrín y endrín aldehído), el compuesto más abundante fue el aldrín, con 64% del grupo (Tabla VIII). En total los ciclodienos presentaron un intervalo de concentración de 0.003 a 0.05 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico. Finalmente, de los ciclodienos clordanos el endosulfán I presentó en promedio la mayor concentración en las muestras seleccionadas, mientras que el endosulfán II ya mencionado anteriormente, no fue detectado. El intervalo encontrado en este grupo fue de 0.15 a 0.67 $\mu\text{g/g}$ de lípidos.

Para resolver parte de las hipótesis y para el cumplimiento de los objetivos de este estudio, se requiere comparar los resultados obtenidos con los reportados en trabajos previos similares, es decir, que estén dirigidos sobre la misma especie (*Z. c. californianus*) o sobre especies diferentes pero con hábitos alimentarios (carnívoros) y distribución geográfica semejantes a los del lobo marino de California. La tabla XII

resume la información generada en cuanto al análisis sobre tejido graso de *Z. c. californianus* en la costa oeste de Norteamérica y los datos reportados para la foca de puerto (*Phoca vitulina*) y la marsopa común (*Phocoena phocoena*). Se eligió el trabajo realizado por Hayteas y Duffield (1997) con estas especies, porque fueron realizados a partir de muestras de grasa de animales varados en la costa de Oregon entre 1991 y 1995. Aunque la marsopa pertenezca a un orden distinto al del lobo marino de California (Cetacea), comparte el mismo nivel en la cadena trófica ya que sus hábitos alimentarios son semejantes, en ambas especies las presas son diversas especies de peces y cefalópodos (Reeves *et al.*, 2002). Además, la distribución de esta especie en la costa oeste de Norteamérica, aunque mucho más norteña, comparte un área considerable con la distribución del lobo marino de California (a excepción de la costa mexicana) y sus hábitos son costeros, por lo cual puede haber traslape de las fuentes de contaminación para ambas especies. En cuanto a la foca de puerto, que sí pertenece al mismo orden que el lobo marino de California (Carnivora), se distribuye desde la península de Baja California hasta las islas Aleutianas (Reeves *et al.*, 2002). Aunque el intervalo de distribución de la foca de puerto sea mayor, es una buena especie para hacer comparación con el lobo marino de California porque comparten parte importante de su distribución y algunas de sus presas (Reeves *et al.*, 2002).

Tabla XII. Comparación de algunos de los contaminantes cuantificados en este estudio (media geométrica e intervalos de concentración en $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico) con los reportados en trabajos anteriores sobre tejido graso de la misma especie (*Z. c. californianus*) y de otros mamíferos marinos varados en la costa de Oregon entre 1991 y 1995 (*Phoca vitulina* y *Phocoena phocoena*).

Especie	Lobo marino de California (<i>Zalophus californianus californianus</i>)					Foca de puerto (<i>Phoca vitulina</i>)	Marsopa común (<i>Phocoena phocoena</i>)
	Este trabajo (2003)	Le Boeuf y Bonnell (1971)	Lieberg- Clark <i>et al.</i> (1995)	Hayteas y Duffield (1997)	Kajiwara <i>et al.</i> (2001)	Hayteas y Duffield (1997)	
n	13	12	7	5	12	10	12
ΣHCHs	0.06 (0.034-0.14)	-	-	-	(0.1-7)	-	-
DDT	0.11 (0.06-0.23)	17 (8.8-34)	0.16 (0.07-0.35)	-	ΣDDTs (13-2900)	-	-
DDE	3.3 (2.3-5.3)	740 (370-1500)	5 (2.5-10)	8.1 (3.2-15.4)		1.9 (0.4-12.5)	2.5 (0.5-9.4)
ΣBPCs	2.85 (1.2-6.7)	-	-	1.3 (ND-2.0)	97.4 (7.2-1300)	1.7 (ND-6.1)	2.1 (ND-24.3)
$\Sigma\text{BPCs}/\text{DDE}$	0.86	-	-	0.16	-	0.89	0.84

n = tamaño de muestra,

- no está reportado

La mayoría de los trabajos reportan exclusivamente al grupo de los DDTs, en cuanto al contenido de pesticidas, por lo tanto las comparaciones con este estudio están basadas principalmente sobre dicho grupo (Tabla XII). En un análisis sobre la contaminación por DDTs en lobos marinos de California, O'Shea y Brownell (1998) mencionan que la gran diferencia en la concentración de estos compuestos en los trabajos realizados entre 1971 y 1995 (por Le Boeuf y Bonnel, y Lieberg-Clark *et al.*, respectivamente) se debe a varias razones, además de la interrupción en el uso de estos pesticidas en Estados Unidos. Atribuyen parte de las diferencias a que en el primer estudio se analizaron muestras de organismos de diversos grupos de edad y de ambos sexos. Además, mencionan que otros factores de variación, como la condición de los organismos y el efecto de los movimientos estacionales de los mismos, no fueron tomados en cuenta. Por otro lado, las extraordinarias concentraciones y los amplios intervalos de concentración reportados por Kajiwara y colaboradores (2001) posiblemente se deban a que las muestras que analizaron contenían un porcentaje de lípidos extremadamente bajo (hasta 0.58% en una muestra) y a que los organismos muestreados pertenecían a machos y hembras con diferentes grupos de edad. Sin embargo, las proporciones de los contaminantes en el trabajo de Kajiwara y colaboradores fueron similares a las del presente estudio, ya que tanto el isómero β de los HCHs y el DDE de los DDTs fueron los más abundantes en ambos estudios. En general, se puede observar que los pesticidas cuantificados en este trabajo presentan niveles de concentración menores a los reportados en estudios previos sobre la misma especie. Esto confirma parte de la primera hipótesis de trabajo, y se infiere que los

niveles de contaminación cuantificados reflejan la interrupción del uso del DDT. Sin embargo, la concentración de DDE encontrada en este estudio es mayor a las registradas para otras especies. Se debe aclarar que, aunque la concentración media de DDE es mayor, los intervalos de concentración en las otras especies tienen un límite superior más alto. Es posible que dichas especies presenten niveles de contaminación de DDE menores a los del lobo marino de California, porque presentan patrones de distribución más norteños (Oregon y Washington), donde el consumo de DDT y de pesticidas en general, fue menos abundante que en el estado de California (Calambokidis y Barlow, 1991, y Hayteas y Duffield, 1997).

Bifenilos policlorados

Los 19 congéneres de BPCs incluidos en el estándar utilizado (Fig. 4c) fueron identificados y cuantificados en las muestras de grasa de lobo marino (Tabla IX). En la figura 14 se puede observar que el contenido de BPCs en las 13 muestras seleccionadas (por presentar correlaciones significativas entre sí, Tabla X), fue menos variable ($r^2 > 0.85$) en contraste con su contenido de pesticidas ($r^2 > 0.7$). Anteriormente se atribuía la menor variabilidad en el contenido de BPCs con respecto a pesticidas en muestras biológicas, a que debido a que la producción de BPCs se realizó forma de mezclas comerciales (Oliver *et al.*, 1989), la composición de dichas mezclas era reflejada en el medio ambiente. Es decir que los patrones de concentración de BPCs en la biota debían ser proporcionales a las concentraciones de las mezclas. Actualmente, esta suposición ya

no es aceptada, porque se sabe que diversos procesos ambientales pueden degradar algunos congéneres, y por lo tanto, a través del tiempo han modificado la composición de la mezcla en el medio (Camacho-Ibar, 1991).

De las cinco muestras eliminadas del análisis comparativo (#3, 5, 7, 8 y 14), cuatro presentaron valores de $r^2 < 0.4$, sólo la #14 obtuvo un valor de $r^2 = 0.82$, pero dicha muestra no se correlacionó significativamente con el promedio, en cuanto a su contenido de pesticidas.

Los congéneres de BPCs más abundantes en este estudio (153, 118, 101 y 138) representan 62% de Σ BPCs en las 13 muestras seleccionadas. Este resultado es congruente con las concentraciones reportadas en otros trabajos realizados con mamíferos marinos en diversas partes del mundo. Por ejemplo, Gauthier *et al.* (1997) incluyen a los mismos congéneres dentro de los más abundantes en tejido graso de diferentes ballenas (género Balaenoptera) del Atlántico norte. Por otro lado, Kleivane *et al.* (1995) encontraron a los congéneres 153 y 138 dentro de los más abundantes en tejido graso de marsopa común (*Phocoena phocoena*) de Escandinavia, al igual que Bernhoft y Skaare (1994) en diversos tejidos de foca de puerto (*Phoca vitulina*) de la costa sur de Noruega.

Las concentraciones de Σ BPCs encontradas en este estudio se compararon con los niveles reportados en estudios previos, realizados con tejido graso tanto de lobo marino de California como de otras especies en la costa oeste de Norteamérica (Tabla XII). Dichas concentraciones, en las 13 muestras seleccionadas, van de 1.2 a 6.7 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico, con una media de 2.85 $\mu\text{g/g}$ de peso lipídico. Este valor es relativamente mayor

en comparación con los trabajos anteriores, tanto sobre la misma especie como en especies diferentes (a excepción del trabajo de Kajiwara *et al.*, 2001). Sin embargo, el hecho de presentar una concentración media aparentemente diferente, no implica que haya diferencias verdaderas. Cabe resaltar que el límite superior en el intervalo de concentración registrado para la foca de puerto es muy similar y el determinado en marsopa común es mayor (más del doble). Además, para hacer una comparación entre los valores de Σ BPCs encontrados en diferentes estudios es necesario que ambos trabajos cuantifiquen los mismos congéneres, que utilicen el mismo método analítico, así como presentar límites de detección similares y analizar muestras con las mismas características (organismos del mismo sexo y grupo de edad). Resulta importante mencionar que Rimkus *et al.* (1993) encontraron poco variables sus resultados al analizar una muestra de grasa de foca de puerto, en 15 laboratorios con métodos analíticos distintos. Dicha variación es similar a la encontrada entre el lobo marino de California, la foca de puerto y la marsopa común. Debido a lo anterior, se puede considerar que el nivel de contaminación por BPCs encontrado en lobo marino de California, es semejante al de las otras poblaciones de mamíferos marinos en la costa oeste de Norteamérica. La concentración de BPCs en lobo marino de California registrada por Kajiwara *et al.* (2001) presenta niveles extraordinariamente elevadas por provenir de muestras cuyo porcentaje lipídico es muy bajo y por lo tanto no se tomó en cuenta en la comparación.

Razón BPCs/DDE

El valor de la razón BPCs/DDE fue utilizada por Hayteas y Duffield (1997) para delinear los hábitos geográficos de las especies e inferir la localización de la fuente de contaminación en las mismas, de acuerdo con Calambokidis y Barlow (1991). Ubicaron al lobo marino de California como una especie cuya distribución sobresale a lo largo de California o bien que se alimenta predominantemente en dicho estado, puesto que el contenido de DDE en su tejido graso fue mucho más abundante que el de BPCs. En cuanto a la foca de puerto y a la marsopa común, ubicaron sus áreas de alimentación en las aguas de Oregon y resaltaron que esta zona presenta niveles de contaminación por pesticidas menores a los de California, pero similares en cuanto a los BPCs. Los resultados de este trabajo presentan concentraciones similares de DDE y BPCs en lobo marino de California por lo que el valor de la razón es alto (0.86) en contraste con el encontrado por dichos autores para la misma especie (0.16). Sin embargo, debido a que el valor de BPCs encontrado en este trabajo se puede considerar similar al de los otros estudios, el valor de la razón no necesariamente indica que los lobos marinos de California analizados en el presente estudio se hayan alimentado en zonas más norteñas.

Posibles efectos en la salud de los lobos marinos de California

Es importante reconocer que la presencia de sustancias tóxicas potenciales (como los organoclorados) en tejidos de mamíferos marinos no constituye por sí sola la evidencia de daño o perjuicio en la salud de estos animales (O'Hara y O'Shea, 2001). Para poder inferir el impacto de dichas sustancias en las poblaciones de mamíferos marinos, es necesario llevar a cabo estudios toxicológicos de preferencia con animales vivos y en cautiverio para facilitar el aislamiento de otras causas de enfermedad. Sin embargo, de acuerdo con Marine Mammal Commission (1999), las dosis letales determinadas en otros animales con rutas metabólicas semejantes (como ratones) se pueden extrapolar para conocer los posibles niveles de toxicidad en mamíferos marinos, en función de las proporciones de peso y concentración de contaminación en ambos organismos. Por otro lado, otros autores han sugerido que residuos de DDT y BPCs de 50 a 200 $\mu\text{g/g}$ en muestras de grasa de cetáceos constituyen un riesgo considerable en la salud de estos animales (Prudente *et al.*, 1997). Los niveles de contaminación encontrados en este estudio, están por debajo de esos valores, por lo cual resulta difícil considerarlos causantes de la muerte de los lobos marinos de California analizados.

CONCLUSIONES

1. La contaminación por pesticidas cuantificados en tejido graso de lobos marinos de California (*Z. c. californianus*) varados muertos a lo largo de la Bahía de Todos Santos, Baja California, durante 1999 y 2001, presenta niveles menores a los analizados anteriormente sobre la misma especie en la costa oeste de Estados Unidos. Esto probablemente indica que se ha reducido la concentración en el medio, debido a la suspensión del uso de pesticidas.
2. Los intervalos de concentración de DDE registrados para foca de puerto (*Phoca vitulina*) y marsopa común (*Phocoena phocoena*) varadas en Oregon durante 1991 y 1995 son mayores y más amplios respecto al intervalo encontrado para lobo marino de California (*Z. c. californianus*) en este estudio. Esto refleja la disminución de este compuesto en el medio por la suspensión del uso de DDT.
3. El pesticida más abundante en todas las muestras analizadas fue el DDE con un porcentaje de 77%. Esto coincide con otros trabajos realizados sobre diversas especies de mamíferos marinos del mundo. Lo anterior se debe al uso extensivo de DDT en el pasado, y a que el DDE es altamente persistente, presenta una solubilidad menor y un factor de bioacumulación mayor al de otros pesticidas.

4. Los intervalos de concentración de BPCs registrados en las muestras de lobo marino de California analizadas, se consideran similares a los encontrados anteriormente por otros autores en Estados Unidos sobre la misma especie (*Z. c. californianus*), así como en foca de puerto (*Phoca vitulina*) y marsopa común (*Phocoena phocoena*) varados en Oregon durante 1991 y 1995.

5. Los BPCs más abundantes en las muestras analizadas fueron los congéneres 153, 118, 101 y 138 y representan 62% de Σ BPCs. Estos congéneres son también dominantes en otros trabajos realizados con mamíferos marinos en diversas partes del mundo y sus niveles de concentración son relativamente constantes, por lo cual, globalmente representan el nivel basal a partir del cual se deberá depurar con el tiempo.

6. El valor de la razón BPCs/DDE determinado en este estudio (0.86) resultó mayor al reportado para *Z. c. californinus* en 1997 (0.16), pero similar al registrado en el mismo año para *Phoca vitulina* (0.89) y *Phocoena phocoena* (0.84). De acuerdo con la información generada sobre los patrones de distribución del lobo marino de California, resulta difícil inferir que los animales analizados en este trabajo se alimentaron en las costas de Oregon (al igual que la foca de puerto y la marsopa común). Es más probable que las diferencias en los valores de la razón BPCs/DDE encontradas en lobo marino de California, se deban a que los

métodos analíticos utilizados fueron distintos y a que probablemente no se analizaron los mismos congéneres de BPCs.

LITERATURA CITADA

- Aguilar, A. y A. Borrell. 1991. Heterogeneous distribution of organochlorine contaminants in the blubber of baleen whales: Implications for sampling procedures. *Marine Environmental Research*. **31**: 275-286.
- Aguilar, A., A. Borrell y P. J. H. Reijnders. 2002. Geographical and temporal variation in levels of organochlorine contaminants in marine mammals. *Marine Environmental Research*. **53**: 425-452.
- Aguilar, A., A. Borrell y T. Pastor. 1999. Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. *J. Cetacean Res. Manage (Special Issue I)*. 83-116.
- Antonelis, G. A., B. S. Stewart y W. F. Perryman. 1990. Foraging characteristics of female northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) and California sea lions (*Zalophus californianus*). *Can. J. Zool.* **68**: 150-158.
- Aranda, M. F. 1983. Estudio de minerales pesados como trazadores de la corriente litoral en la Bahía de Todos Santos, B. C. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B. C., México.
- Arcega-Cabrera, C. F. 1996. Determinación de hidrocarburos clorados en tejido adiposo subcutáneo de cetáceos preservado en dimetil sulfóxido. Tesis de licenciatura. UABC. 50 pp.
- Aurioles, D., C. Fox, F. Sinsel y G. Tanos. 1984. Prey of the California sea lion (*Zalophus californianus*) in the Bay of La Paz, Baja California Sur, Mexico.

Journal of Mammalogy. **65** (3): 519-521.

Aurioles, D., F. Sinsel, C. Fox, E. Alvarado y O. Maravilla. 1983. Winter migrations of subadult male California sea lions (*Zalophus californianus*) in the southern part of Baja California. *Journal of Mammalogy*. **64** (3): 513-518.

Bartholomew, G. A. y R. A. Boolootian. 1959. Numbers and population structure of the pinnipeds on the California Channel Islands. *Journal of Mammalogy*. **41** (3): 366-375.

Bejarano-González, F. 2002. La Espiral del Veneno. Guía Crítica Ciudadana Sobre Plaguicidas. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM). Ed. Printing Perfection. Texcoco, Edo. de México. 226 pp.

Bernhoft, A. y J. U. Skaare. 1994. Levels of selected individual polychlorinated biphenyls in different tissues of harbour seals (*Phoca vitulina*) from the southern coast of Norway. *Environmental Pollution*. **86**: 99-107.

Bravo J., E. 2003. Distribución espacio-temporal de los varamientos de mamíferos marinos en la Bahía de Todos Santos, Baja California, México, 1998-2001. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B. C., México.

Byrum, J. 1995. California Sea Lion. Sea World Education Series. 2a. edición. Sea World, Inc. 26 pp.

Calambokidis, J. y J. Barlow. 1991. Chlorinated hydrocarbons concentrations and their use for describing population discreteness in harbor porpoises from Washington, Oregon, and California 844-848. En: J. E. Reynolds III y D. K. Odell (eds.).

- Marine Mammal Strandings in the United States: Proceedings of the Second Marine Mammal Stranding Workshop. NOAA Technical Report National Marine Fisheries Service 98, 101-110 pp. National Technical Information Service.
- Camacho-Ibar, V. 1991. Trace elements and PCB congeners in Liverpool Bay Sediments. PHD Dissertation. University of Wales Bangor, School of Ocean Sciences. Gales, Reino Unido.
- Comisión para la Cooperación Ambiental de América del Norte. 1997. Plan de acción regional de América del Norte para el manejo del DDT, Grupo de trabajo de América del Norte para el manejo racional de sustancias químicas, subgrupo de trabajo para el manejo de DDT y clordano. <http://www.cec.org/programs-projects/pollutants-health/>
- Coria, M. P. 1991. Distribución de probabilidad de la ola significativa del oleaje y cálculo de periodos de retorno para el puerto de Ensenada, B. C. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B. C., México.
- De Long, R. L., W. G. Gilmartin y J. G. Simpson. 1973. Premature births in California sea lions: Association with high organochlorine pollutant residue levels. *Science*. **181**: 1168-1169.
- Dierauf, L. A. 1994. Pinniped Forensic, Necropsy and Tissue Collection Guide. U. S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration y National Marine Fisheries Service. 80 pp.
- Environmental Protection Agency (U.S.A.). 1994. Recommended guidelines for

- sampling marine mammal tissue for chemical analyses in Puget Sound. Puget Sound Water Quality Authority. Seattle, WA. 71 pp.
- Environmental Protection Agency (U.S.A.). 1999. Recognition and Management of Pesticide Poisonings. Reigart, R. J. y J. R. Roberts (eds.) 5a ed. USA. 236 pp.
- Environmental Protection Agency (U.S.A.), Glossary. 2001. Lindane. <http://lindane.org>
- García, P. L. y B. G. Chee. 1976. Ecología de la zona de entremareas de la Bahía de Todos Santos. *Ciencias Marinas* 3(1):10-29.
- Gauthier, J. M., C. D. Metcalfe y R. Sears. 1997. Chlorinated organic contaminants in blubber biopsies from northwestern Atlantic balaenopterid whales summering in the Gulf of St Lawrence. *Marine Environmental Research*. **44** (2): 201-223.
- Geraci, J. R. y V. L. Lounsbury. 1993. Marine Mammals Ashore: A field guide for strandings. Texas A&M Sea Grant Collage Program. Galveston, TX, EUA. 344 pp.
- Gutiérrez-Galindo E. A., L. M. Ríos-Mendoza, G. F. Muñoz y J. A. Villaescusa-Celaya. 1998. Chlorinated hydrocarbons in marine sediments of Baja California (Mexico)-California (USA) border zone. *Marine Pollution Bulletin*. **36** (1): 27-31.
- Hayteas, D. L. y D. H. Duffield. 1997. The determination by HPLC of PCB and p,p'-DDE residues in marine mammals stranded on the Oregon coast, 1991-1995. *Marine Pollution Bulletin*. **34** (10): 844-848.
- Holden, A. V. y K. Marsden. 1969. Single-stage clean-up of animal tissue extracts for organochlorine residue análisis. *Journal of Chromatography*. **44**: 481-492.

- Hooper, S. W., Ch. A. Pettigrew, y G. S. Sayler. 1990. Ecological fate, effects and prospects for the elimination of environmental polychlorinated biphenyls (PCBs). *Environmental Toxicology and Chemistry*. **9**: 655-667.
- Jarman, W. M., R. J. Norstrom, D. C. G. Muir, B. Rosenberg, M. Simon y R. W. Baird. 1996. Levels of organochlorine compounds, including PCDDS and PCDFS, in the blubber of cetaceans from the West coast of North America. *Marine Pollution Bulletin*. **32** (5): 426-436.
- Jones, R. E. 1981. Food habits of smaller marine mammals from Northern California. *Proceedings of the California Academy of Sciences*. **42** (16): 409-433.
- Kajiwara, N., K. Kannan, M. Muraoka, M. Watanabe, S. Takahashi, F. Gulland, H. Olsen, A. L. Blankenship, P. D. Jones, S. Tanabe y J. P. Gisey. 2001. Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, and butylin compounds in blubber and livers of stranded California sea lions, elephant seals, and harbor seals from coastal California, USA. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **41**: 90-99.
- Kleivane, L., J. U. Skaare, A. Bjørge, E. de Ruiter y P. J. H. Reijnders. 1995. Organochlorine pesticide residue and PCBs in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) incidentally caught in scandinavian waters. *Environmental Pollution*. **89** (2): 137-146.
- Le Boeuf, B. J., D. Auriolles, R. Condit, C. Fox, R. Gisiner, R. Romero y F. Sinsel. 1983. Size and distribution of the California sea lion population in Mexico. *Proceedings of the Academy of Sciences*. **43** (7): 77-85.

- Le Boeuf, B. J. y M. L. Bonnell. 1971. DDT in California sea lions. *Nature*. **234**: 108-109.
- Lieberg-Clarck, P., C. E. Bacon, S. A. Burns, W. M. Jarman y B. J. Le Boeuf. 1995. DDT in California sea lions: A follow-up study after twenty years. *Marine Pollution Bulletin*. **30** (11): 744-745.
- Lluch-Belda, D. 1969. El lobo marino de California *Zalophus californianus californianus* (Lesson, 1828). Allen, 1880. Observaciones sobre su ecología y explotación. *Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables*. México, D. F. 69 pp.
- Lowry, M. S. y O. C. Maravilla. 2002. Abundancia de lobos marinos de California (*Zalophus californianus*) en Baja California, México y Estados Unidos de América durante julio y agosto del 2000. XXVII Reunión Internacional para el Estudio de los Mamíferos Marinos. Veracruz, México, mayo, 2002.
- Lynn, R. M., L. A. Dierauf, y F. M. D. Gulland. 2001. Marine Mammals as Sentinels of Ocean Health. Págs. 3-9. En: Handbook of Marine Mammal Medicine. Dierauf L. A., y F. M. D. Gulland (eds.). CRC Press.
- Maldonado, E. J., F. Orta-Dávila, B. S. Stewart, E. Geffen, R. K. Wayne. 1995. Intraspecific genetic differentiation in California sea lions (*Zalophus californianus*) from Southern California and the Gulf of California. *Marine Mammal Science*. **11**(1):46-58.
- Mastrantonio, G. 2000. Compuestos organoclorados como contaminantes persistentes: El caso de las dioxinas y los bifenilos policlorados. Progeo. S. A. Nota técnica

no. 2. <http://progeo.hypermart.net>

- Marine Mammal Commission. 1999. Marine Mammals and Persistent Ocean Contaminants: Proceedings of the Marine Mammal Commission Workshop, Keystone, Colorado, 12-15 October, 1998. T. J. O'Shea, R. R. Reeves y A. K. Long (eds.). 150 pp.
- Moody, J. 2003. América del Norte ya no usa Clordano. Boletín trimestral de la CCA, "Trío". 9: 3. Primavera, 2003.
- Nimmo, D. R. 1985. Pesticides. Págs. 335-373. En: Fundamentals of Aquatic Toxicology. Rand, G. M. y S. R. Petrocelli (eds.). Hemisphere Publishing Corporation. EUA. 666 pp.
- O'Hara, T. M. y T. J. O'Shea. 2001. Toxicology. Págs. 471-520. En: Handbook of Marine Mammal Medicine. Dierauf L. A., y F. M. D. Gulland (eds.). CRC Press.
- Odell, D. K. 1975. Breeding biology of the California sea lion, *Zalophus californianus*. En: Biology of the seal. *Rapports et Procés-Verbaux de Réunions*. Ronald, K, y A. W. Mansfield.(eds.). **169**: 374-378.
- Oliver, B. G., R. M. Baxter, y H. Lee. 1989. Polychlorinated biphenyls. En: Analysis of Trace Organics in the Aquatic Environmental. Afghan, C. y Chau, A. (eds.). 31-67. *CRC, Press Inc.*
- O'Shea, T. J. 1999. Environmental contaminants and Marine Mammals. Págs. 485-536. En: Biology of Marine Mammals. Reynolds, J. E. III y S. A. Rommel (eds.). *The Smithsonian Institution Press*. 578 pp.
- O'Shea, T. J. y R. L. Brownell, Jr. 1998. California Sea Lion (*Zalophus californianus*)

- Populations and DDT Contamination. *Marine Pollution Bulletin*. **36** (2): 159-164.
- Peterson, S. R. y G. A. Bartholomew. 1967. The Natural History and Behavior of the California Sea Lion. *The American Society of Mammalogists*. 79 pp.
- Phillips, H. D. J. 1995. The chemistries and environmental fates of trace metals and organochlorines in aquatic ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*. **31** (4-12): 193-200.
- Prudente, M., S. Tanabe, M. Watanabe, A. Subramnian, N. Miyazki, P. Suarez y R. Tatsukawa. 1997. Organochlorine contamination in some odontoceti species from the North Pacific and Indian Ocean. *Marine Environmental research*. **44** (4): 415-427.
- Pryde, L. T. 1973. Pesticides, Food, and Drugs. Cummings Publishing Company. EUA. 325 pp.
- Reeves, R. R., B. S. Stewart, P. J. Clapham y J. A. Powell. 2002. Guide to Marine Mammals of the World. Nacional Audubon Society. New York. 527 pp.
- Rimkus, G., L. Rexilius, G. Heidemann, A. Vagts, y J. Hedderich. 1993. Results of an interlaboratory study on organochlorine compounds (PCB, DDT, DDE) in seal blubber (*Phoca vitulina*). *Chemosphere*. **26** (6): 1099-1108.
- Scheffer, V. B. 1958. Seal, Sea Lions and Warluses. A review of pinnipedia. Stanford University Press. Stanford California, USA. 179 pp.
- Schramm, U. Y. 2002. Estructura genética y filogeográfica del lobo marino de California (*Zalophus californianus californianus*) en aguas adyacentes a la

- península de Baja California, México. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B. C., México. 146 pp.
- Secretaría de Marina. 1974. Estudio Geográfico de la región de Ensenada, Baja California. Dirección General de Oceanografía y Señalamiento Marino. México, D. F. 465 pp.
- Severinsen, T., J. U. Skaare y C. Lydersen. 2000. Spatial distribution of persistent organochlorines in ringed seal (*Phoca hispida*) blubber. *Marine Environmental Research*. 49: 291-302.
- Tanabe, S. 1988. PCB Problems in the future: Foresight from Current Knowledge. *Environmental Pollution*. 50: 5-28.
- Valdez-Márquez, M. M. 2001. Determinación de hidrocarburos clorados en ballena azul (*Balaenoptera musculus*) y eufáusidos del Pacífico mexicano. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Baja California, México. 83 pp.