

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.  
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y  
AGROPECUARIAS.**



**“Variación Isotópica del  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre diferentes tejidos musculares del tiburón cazón (*Mustelus henlei*) en la zona del Pacífico de Baja California Sur”.**

**TESIS**

Para obtener el grado de Licenciado en Biología.

**PRESENTA**

Eduardo David Méndez Da Silveira

**DIRECTOR**

Dr. Yassir Edén Torres Rojas.

Guadalajara, Jalisco. Agosto 2012





**Universidad de Guadalajara**  
**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

*Coordinación de Carrera de la Licenciatura en Biología*

COORD-BIO-105/2010.

C. EDUARDO DAVID MÉNDEZ DA SILVEIRA  
PRESENTE

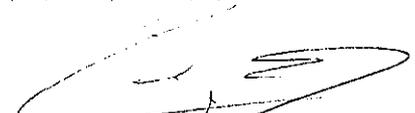
Manifestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de TESIS E INFORMES opción TESIS con el título: "*Variación Isotópica del  $\delta^{15}\text{N}$  o  $\delta^{13}\text{C}$  entre diferentes tejidos musculares del tiburón cazón (*Mustelus henlei*) en la Zona del Pacífico de Baja California Sur*", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como directora de dicho trabajo a: M.C. Yassir Edén Torres Rojas y como asesores a: M.C. Ildelfonso Enciso Padilla, M.C. Felipe Galván Magaña.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"PIENSA Y TRABAJA"

'2010 Bicentenario de la Independencia y Centenario de la Revolución Mexicana"  
Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 21 de Septiembre del 2010



DRA. TERESA DE JESUS ACEVES ESQUIVIAS  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



M.C. GLORIA PARADA BARRERA  
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

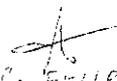
Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivias.  
 Presidente del Comité de Titulación.  
 Licenciatura en Biología.  
 CUCBA.  
 Presente

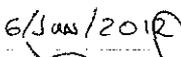
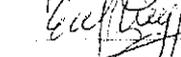
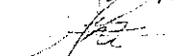
Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad Tesis, Propuesta pedagógica, Paquete didáctico, y otras en este rubro, opción Tesis con el título: "Variación isotópica del  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre diferentes tejidos musculares del tiburón cazón (*Mustelus henlei*) en la zona del Pacífico de Baja California Sur" que realizó el/la pasante Eduardo David Méndez Da Silveira con número de código B03007421 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

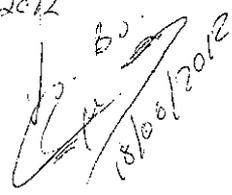
Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente  
 Lugar y fecha  
 Guadalajara, Jalisco, México  
 09 de Abril del 2012

Firma   
 Nombre Dr. Teresa de Jesús Aceves Esquivias  
 Director/a del trabajo,

Firma   
 Nombre DR. FELIPE GALVÁN MASERO  
 Asesor(es)  
M.C. ILDEFONSO ENCISO PÉREZ

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
<u>ILDEFONSO ENCISO PÉREZ</u>		<u>6/Jun/2012</u>
<u>Miguel Carrizosa Solís</u>		<u>24/Jun/2012</u>
<u>Eduardo Ros Jara</u> Supl.		<u>14/Jun/2012</u>
<u>Yolanda Pérez Pérez</u>		<u>15/Jun/2012</u>

  
 18/06/2012

## **DEDICATORIA**

**A mi mamá Lucila E. Méndez Da Silveira**

**y**

**A mi abuelo Luis Méndez Ruiz donde quiera que estés espero que estés bien y en Paz**

## AGRADECIMIENTOS

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) por la aceptación de mi persona tanto en prácticas profesionales y apoyo académico de alto nivel para la elaboración de esta tesis de titulación para licenciatura

Al Dr. Felipe Galván Magaña por el apoyo moral, económico y por darme su orientación y compañía y sobre todo paciencia para la elaboración de este trabajo. Gracias por confiar en mí.

Al Dr. Sergio Aguiñiga García por sus consejos y cooperación para llevar a cabo de manera efectiva el análisis de isótopos estables.

Agradezco a mi mamá Lucila E. Méndez Da Silveira por su apoyo moral y económico y por todo el tiempo que confió en mí y no me dejó de apoyar, gracias te amo mucho.

Gracias a mi novia Mariana Hidalgo quien me apoyo a agilizar este trabajo y que al final me dio su apoyo moral para poder presentarla. Te amo mucho.

## ÍNDICE DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS	PAGINA	
<b>FIGURA 1</b>	Corte transversal de la zona del tronco en un elasmobranquio (distribución de los diferente paquetes musculares tanto exterior como interiormente; epiaxial e hypoaxial).	10
<b>FIGURA 2</b>	Musculatura de la parte anterior del cuerpo de un elasmobranquio y la vista lateral del músculo epiaxial e hypoaxial.	10
<b>FIGURA 3</b>	Distribución de los paquetes musculares epiaxial e hypoaxial y como se insertan en la parte superior y al costado de la cabeza.	11
<b>FIGURA 4</b>	Paquetes musculares que se distribuye a lo largo de cuerpo hasta la zona caudal.	11
<b>FIGURA 5</b>	Vista ventral de la cabeza del tiburón <i>Mustelus henlei</i> .	13
<b>FIGURA 6</b>	Vista horizontal del cuerpo completo.	13
<b>FIGURA 7</b>	Vista frontal de la dentadura superior e inferior de la mandíbula del <i>M. henlei</i> .	14
<b>FIGURA 8</b>	Vista de ambas perspectivas de los denticulos dérmicos del <i>M. henlei</i> .	14
<b>FIGURA 9</b>	Área de estudio. Ubicación del campo pesquero y zona de muestreo (PL = Punta Lobos).	19

<b>FIGURA 10</b>	Vista horizontal y ventral del cuerpo completo de un tiburón, donde se muestra el nombre técnico de cada una de las partes que componen externamente al organismo.	21
<b>FIGURA 11</b>	Zona donde se realizaron los cortes en el cuerpo del <i>M. henlei</i> y sección con las replicas realizadas en esta zona.	22
<b>FIGURA 12</b>	Zona donde se realizaron los cortes en el cuerpo del <i>M. henlei</i> y sección con las replicas realizadas en esta zona.	23
<b>FIGURA 13</b>	Zona de los cortes en el cuerpo del <i>M. henlei</i> y sección con las replicas de esta zona.	23
<b>FIGURA 14</b>	Zona de los cortes en el cuerpo del <i>M. henlei</i> y sección con las replicas de esta zona.	24
<b>FIGURA 15</b>	Zona de los cortes en el cuerpo del <i>M. henlei</i> y sección con las replicas de esta zona.	24
<b>FIGURA 16</b>	Distribución de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las zonas epiaxial e hipoaxial de <i>M. henlei</i> .	28
<b>FIGURA 17</b>	Distribución de los valores de la relación C: N con respecto a los valores del $\delta^{13}\text{C}$ en las zonas epiaxial e hipoaxial.	29
<b>FIGURA 18</b>	Distribución de los valores promedio de los 5 cortes realizados a diferentes longitudes del paquete epiaxial.	30

## ÍNDICE DE TABLAS

LISTA DE TABLAS	PAGINA
<b>Tabla 1</b> Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de cada muestra de tejido en dos diferentes paquetes musculares del tiburón.	27

## GLOSARIO

**Analizador elemental:** Instrumento automatizado que convierte la muestra en un gas para ser inyectados en el espectrómetro de masas. Contiene un incinerador para la combustión química de la muestra, una trampa química para purificar los gases y el cromatógrafo de gases para separar las especies de gases puros para los análisis. (Román-Reyes 2005).

**Comunidad:** término que designa cualquier grupo natural de organismos que viven juntos en un ambiente determinado y que interactúan unos con otros. (John Daintith, *et al* 2001).

**Desarrollo ontogénico:** el desarrollo de un organismo, desde el óvulo fertilizado hasta su senescencia, pasando por la forma adulta. La ontogenia es estudiada por la biología del desarrollo. "La ontogenia es la historia del cambio estructural de una unidad sin que ésta pierda su organización. Este continuo cambio estructural se da en la unidad, en cada momento, o como un cambio desencadenado por interacciones provenientes del medio donde se encuentre o como resultado de su dinámica interna". (Enciclopedia en línea Wikipedia).

**Ecosistema:** Unidad fundamental de la biosfera que representa un nivel de organización que funciona como un sistema, en el cual se manifiestan conjuntamente los factores abióticos (físicos y químicos), así como los factores bióticos (los que provienen de los seres vivos). (Torres-Rojas 2011).

**Especie:** Grupo de poblaciones naturales real o potencialmente intercrucables, aislados reproductivamente de otros grupos análogos. Es un concepto que destaca el cruzamiento dentro de un sistema de poblaciones y el asilamiento de reproducción frente a otras. (Torres-Rojas 2011).

**Espectrómetro de masas de razones isotópicas:** Instrumento analítico de gran precisión que se utiliza para medir la razón absoluta entre dos isótopos (R) y obtener posteriormente la razón isotópica de una muestra relativa a un estándar ( $\delta$ ). (Román-Reyes 2005).

**Fracccionación isotópica:** El enriquecimiento o reducción de un isótopo estable causado por procesos naturales o artificiales. (Román-Reyes 2005).

**Hábito alimenticio:** Estudio detallado que provee una descripción del alimento que es ingerido recientemente por los organismos con el fin de comprender la interacción ecológica entre el depredador y la presa, por lo que es preciso conocer la cantidad de alimento ingerido y la frecuencia alimenticia del depredador. (Harvey y Kitchel, 2000; Carrier *et al* 2004).

**Interacción:** Acción recíproca entre los miembros de un grupo o comunidad: Puede tomar la forma de competencia, interacción depredador-presa, simbiosis, etc. (Román-Reyes 2005).

**Interespecífico:** Entre especies, interacción entre o condiciones descritas para dos o más especies. (Torres-Rojas 2011).

**Intraespecífico:** Dentro de una especie, interacción entre individuos conspecíficos o condiciones descritas para una sola especie. (Torres-Rojas 2011).

**Isótopo estable:** Un isótopo no radiactivo el cual no se degrada espontáneamente. Los isótopos estables no tienen riesgo fisiológico. (Enciclopedia en línea Wikipedia).

**Isotónico:** se dice de una solución cuya presión osmótica o concentración es igual a la de una solución específica, generalmente tomada dentro de una célula. Por lo tanto no gana ni pierde agua por ósmosis. (John Daintith *et al* 2001).

**Isotopo:** Átomos de un mismo elemento en cuyo núcleo contiene el mismo número de protones pero diferente número de neutrones, lo que hace variar la masa. (Torres-Rojas 2011).

**Migración:** Se denomina migración a todo desplazamiento de la población (humana o animal) que se produce desde un lugar de origen a otro de destino y lleva consigo un cambio de la residencia habitual en el caso de las personas o del hábitat en el caso de las especies animales migratorias. (Enciclopedia en línea Wikipedia).

**Metabolismo:** es el conjunto de reacciones bioquímicas y procesos físico-químicos que ocurren en una célula y en el organismo.<sup>1</sup> Estos complejos procesos interrelacionados son la base de la vida a escala molecular, y permiten las diversas actividades de las células: crecer, reproducirse, mantener sus estructuras, responder a estímulos, etc. (Enciclopedia en línea Wikipedia).

**Músculos epiaxial:** Incluye músculos dorsales que se encuentran asociadas con las vertebras. (Enciclopedia en línea Wikipedia).

**Músculos hipoaxial:** Se encuentran localizados en la parte mas baja de cuerpo a menudo mas abajo del septo horizontal principalmente en peces y anfibios. (Enciclopedia en línea Wikipedia).

**Nivel trófico:** Posición en la que se encuentra un determinado organismo en la cadena trófica, dicha posición está determinada por la manera en que obtiene su energía (Gerking, 1994).

**Otolito:** Estructura compuesta de cristales de carbonato de calcio en forma de aragonita y de una matriz orgánica constituida por una proteína llamada otolina que forma parte del oído interno de los peces (Lux, 1971).

**Pee Dee Belemnita (PDB):** Es un fósil de Belemnita americana de la formación geológica Pee Dee de Carolina del sur, USA. Es utilizado como estándar para expresar la abundancia isotópica de carbono y oxígeno. Su razón isotópica absoluta (R) es 0.011238 (Enciclopedia en línea Wikipedia).

**Población:** Grupo de organismos de la misma especie que ocupan un determinado espacio. (John Daintith *et al* 2001).

**Poiquiloterms:** Organismos que presentan una condición en la que la temperatura corporal varía con la del medio ambiente (de sangre fría). (John Daintith *et al* 2001).

**Razón carbono-nitrógeno (C/N):** La cantidad (v.g miligramos) de carbono dividido entre la cantidad de nitrógeno presente en una muestra, generalmente en miligramos. (Rau et al., 1990).

**Tasa de recambio isotópico:** Periodo en el que las razones isotópicas de un tejido reflejan la señal o firma isotópica de una dieta en particular. Los tejidos con una tasa de recambio isotópica rápida reflejarán una dieta reciente mientras que aquellos tejidos con una tasa de recambio lenta reflejarán la dieta promedio representativa de un periodo mucho más extenso. (Torres-Rojas 2011).

**Trazador isotópico:** Se refiere a una cantidad de isótopos estables elevada, la cual es superior a los niveles de abundancia natural. (Román-Reyes 2005).

$\delta^{13}\text{C}$ : Diferencia expresada en partes por mil entre la razón de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  de una muestra y la razón  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  del estándar (Pee Dee Belemnite en el caso del carbono) (Rau et al., 1990).

$\delta^{15}\text{N}$ : Diferencia expresada en partes por mil entre la razón de  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  de una muestra y la razón  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  del estándar (nitrógeno atmosférico en el caso del nitrógeno) (Rau et al., 1990).

## RESUMEN

El análisis de isótopos estables se ha utilizado eficazmente en estudios de relaciones tróficas, nivel trófico e historial alimenticio. Sin embargo a pesar de la precisión de la técnica y de los análisis, existen ciertas limitaciones debido a variación isotópica del tipo de tejido y ubicación en el cuerpo del organismo, lo que podría limitar la interpretación o tener interpretaciones erróneas. La aplicación de esta técnica en tejido muscular ha sido cuestionada, debido a que en ocasiones la biopsia puede provenir de una parte distinta de músculo o diferente nivel de corte para la obtención de la biopsia. Por lo que en el presente estudio se analiza el intervalo de variación isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en los paquetes musculares más importantes del cuerpo de un tiburón. Este análisis se realizó en el tiburón cazón *Mustelus henlei*, del cual se tomaron biopsias de músculo a diferentes distancias y profundidades de ambos paquetes musculares (epiaxial e hipoaxial). Posteriormente se analizaron isotópicamente y se compararon estadísticamente según su grupo, encontrando variación significativa en la zona epiaxial en las muestras cercanas a la cabeza y entre ambos paquetes musculares (epiaxial e hipoaxial). Estas diferencias isotópicas podrían deberse a la diferente composición bioquímica y fisiológica entre ambos paquetes musculares.

## ÍNDICE GENERAL

1. MARCOTEORICO.....	1
1.2 INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 TEORIA DE ISOTOPOS ESTABLES.....	3
2.2 EL USO DE ISÓTOPOS ESTABLES DE NITROGENO ( $\delta^{15}\text{N}$ ) Y CARBONO ( $\delta^{13}\text{C}$ ).....	3
2.3 VARIACION ISOTOPICA DE NITROGENO ( $\delta^{15}\text{N}$ ) Y CARBONO ( $\delta^{13}\text{C}$ ).....	6
2.3.1 Variación isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre regiones.....	7
2.3.2 Variación isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en relación a su tasa de crecimiento.....	7
2.3.3 Variación isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre tejidos.....	8
2.4 COMPOSICIÓN MUSCULAR DE LOS ELASMOBRANQUIOS.....	9
2.5 IMPORTANCIA ECOLOGICA Y ECONOMICA DE LOS TIBURONES.....	12
3. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE <i>Mustelus henlei</i> .....	12
3.1 Generalidades de la familia.....	12
4. JUSTIFICACIÓN.....	15
5. HIPOTESIS.....	16
6. OBJETIVO GENERAL.....	17
6.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	17
7. AREA DE ESTUDIO.....	18

8. MATERIAL Y METODOS.....	20
8.1 TRABAJO DE CAMPO.....	20
8.2 TRABAJO DE LABORATORIO.....	21
8.2.1 Elaboración de cortes para tejido .....	21
9. DETERMINACION DE ZONAS DE CORTES.....	22
9.1. DATOS DE LOS CORTES.....	22
9.1.1 Preparación de muestras para análisis isotópico.....	24
10. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	26
11. RESULTADOS.....	27
11.1 VALORES ISOTÓPICOS DE $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ Y LA VARIACIÓN DE LA RELACIÓN C:N EN EL MUSCULO DE <i>M. henlei</i> .....	27
11.2 VARIACIÓN ISOTÓPICA DEL MUSCULO EPAXIAL E HYPOPAXIAL A NIVEL LONGITUDINAL EN EL TIBURÓN <i>M. henlei</i> .....	29
11.3 VARIACIÓN ISOTÓPICA DEL MUSCULO EPAXIAL E HYPOPAXIAL EN DIFERENTES PROFUNDIDADES DE CORTE EN EL TIBURÓN <i>M. henlei</i> .....	31
11.4 DIFERENCIAS INTERMUSCULARES (EPAXIAL VS HYPOPAXIAL) EN EL TIBURÓN <i>M. henlei</i> .....	33
12. DISCUSIÓN.....	34
12.1 Variación isotópica de acuerdo a la zona de alimentación.....	36
12.2 Variación isotópica de acuerdo al tipo de dieta.....	37
12.3 Variación isotópica de acuerdo a la fisiología de la especie.....	39
13. CONCLUSIONES.....	49
14. RECOMENDACIONES.....	50

15. BIBLIOGRAFIA.....	51
-----------------------	----

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1 INTRODUCCIÓN

A través de los años los ecólogos han mostrado un gran interés en el estudio de las relaciones tróficas de las especies, las cuales aportan información de las interacciones que mantienen los miembros de una comunidad. Esta información es considerada valiosa en el ámbito científico ya que permite conocer a detalle la ecología trófica de los organismos, logrando comprender las relaciones a nivel intraespecífico e interespecífico, los flujos de energía y vías de nutrientes, puntos considerados como básicos para la conservación y manejo de un recurso pesquero o un ecosistema.

En el caso de los tiburones, las relaciones tróficas de estas especies han sido estudiadas por lo general a partir del análisis del contenido estomacal donde se ha observado que estos depredadores se mantienen unidos a una base alimenticia comunitaria (Cailliet *et al.*, 1996). Sin embargo, el papel subsiguiente que juega el animal en diferentes áreas y periodos de tiempo ha sido difícil de evaluar (Rau *et al.*, 1983). Recientemente, se ha observado que el uso de una o más técnicas de manera combinada con el análisis de contenido estomacal permite describir de manera adecuada las interacciones tróficas en una comunidad, lo que ha permitido evaluar el papel que desempeñan las diferentes especies de tiburones en un ecosistema.

Entre las técnicas que se puede mencionar se encuentra la de los isótopos estables (Peterson & Fry, 1987). Esta técnica analiza la composición isotópica de un organismo, la cual está determinada por el valor isotópico del alimento consumido (DeNiro & Epstein, 1981) y proporciona información integrada del material asimilado por el consumidor (Román-Reyes, 2003), ofreciendo así una amplia representación de cómo las fuentes nutricionales (desde la base de la cadena trófica) están siendo utilizadas, lo que proporciona una descripción en el tiempo de las relaciones tróficas de una especie (Peterson & Fry, 1987).

Los isótopos estables de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) han sido los más utilizados para diferenciar entre múltiples fuentes de alimentos. El enriquecimiento del isótopo de nitrógeno es un indicador de la posición trófica en una red de alimentos debido a que existe un patrón de

fraccionación isotópica por cada nivel trófico; mientras que el enriquecimiento del isótopo de carbono permite ser utilizado como un indicador de la fuente original del carbono en la red de alimentos, permitiendo detectar áreas de alimentación (Overman & Parrish, 2001).

Se ha observado que el análisis de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en tejidos con un estado metabólico inactivo (dientes, escamas, vertebras, otolitos de peces, entre otros), pueden reflejar la dieta de los organismos durante su desarrollo ontogénico (escala de tiempo larga: años), mientras que el uso de tejidos con un estado metabólico activo (músculo, hígado, sangre, plasma, entre otros) permite detectar cambios en la dieta en periodos de tiempo corto (escala de tiempo cortos: días, meses) y la ventaja de estos últimos es que pueden ser obtenidos de algunos animales sin necesidad de sacrificarlos, lo que ha permitido el muestreo de especies protegidas o en peligro de extinción (Hobson *et al.*, 1996).

Se han obtenido biopsias de músculos de la parte dorsal de diferentes especies de tiburones como son: tiburón ballena (*Rhincodon typus*), tiburón peregrino (*Cetorhinus maximus*), tiburón blanco (*Carcharodon carcharias*) entre otros, los cuales están protegidos a nivel nacional e internacional por diferentes organizaciones de conservación (ejemplo: UICN). Este tipo de estudios relacionados con los isotopos estables han permitido reconstruir la dieta (Torres-Rojas, 2006), cambios estacionales en las áreas de alimentación (Hacohen-Domene, 2007) y segregación espacio temporal de acuerdo su estado ontogénico (Estrada, 2003) de diferentes especies de tiburones sin sacrificarlos.

Sin embargo, en la actualidad la aplicación de esta técnica en tejido muscular ha sido cuestionada, debido a que en ocasiones las biopsias recolectadas pueden provenir de diferentes áreas del cuerpo de los animales a diferentes profundidades de corte, debido a las dificultades que se presentan a la hora del muestreo. Al respecto, varios autores ha observado en diferentes especies de aves, mamíferos y peces óseos, variaciones isotópicas en función del estado fisiológico de los individuos y del tipo de tejido analizado, lo que puede derivar en valores isotópicos diferentes y por ende la interpretación de datos de forma errónea en cuanto al comportamiento trófico de las especies.

Sin embargo, esta variación isotópica no ha sido comprobada en elasmobranchios, por lo que es necesario realizar estudios que evalúen los factores potenciales a nivel individuo que pueden afectar al fraccionamiento en el músculo y como se ve reflejado en los valores isotópicos obtenidos, por lo cual en el presente estudio se analiza las biopsias de músculo obtenidas en diferentes partes del cuerpo del tiburón *Mustelus henlei*.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 TEORIA DE ISÓTOPOS ESTABLES.

El análisis de isótopos estables ofrece una representación de cómo las fuentes nutricionales (desde la base de la cadena alimenticia), están siendo utilizadas para proporcionar una descripción integrada en el tiempo de las relaciones tróficas basada en la dieta asimilada a largo plazo. (Román-Reyes, 2003). Cuando las relaciones isotópicas de un animal son comparadas con las proporciones del productor primario dominante en un sistema, se puede deducir el origen de la dieta del animal (Créach *et al.*, 1997; Peterson & Whitfield, 1997).

Los isótopos estables de muchos compuestos están constituidos de un isótopo de mayor abundancia (isotopo ligero) y uno de menor abundancia (isotopo pesado). La menor abundancia y las características químicas de esos isótopos son utilizados en fuentes enriquecidas como trazadores en estudios bioquímicos, biológicos y del medio ambiente (Román-Reyes, 2003). En los materiales de interés biológico la variación de los isótopos estables de menor abundancia es muy pequeña por lo que generalmente son reportados en cantidades de partes por mil (‰) comparados con un estándar arbitrario pero adoptado internacionalmente (Román-Reyes, 2003).

### 2.2 EL USO DE ISÓTOPOS ESTABLES DE NITROGENO ( $\delta^{15}\text{N}$ ) Y CARBONO ( $\delta^{13}\text{C}$ ).

La abundancia relativa de los isótopos estables del carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ), han sido de utilidad en estudios ecológicos por más de 40 años. Sirven como trazadores químicos

naturales de procesos ecológicos. Además, la relación isotópica estable de un tejido animal provee una medida de asimilación en la dieta de un animal, por lo que se pueden trazar flujos de energía, cambios de hábitat, o caracterizar los hábitos alimentarios de una población.

Cuando las relaciones isotópicas de un animal son comparadas con las proporciones del productor primario dominante en un sistema, se puede deducir el origen de la dieta del animal (Peterson & Whitfield, 1997). Por ejemplo, se puede estudiar el flujo de nutrientes en ambientes acuáticos, identificar las fuentes de producción primaria que sustentan una cadena alimentaria, determinar el nivel trófico de un consumidor, reconstruir series de tiempo que reflejen las condiciones ambientales del pasado, caracterizar dietas en estudios paleoecológicos, y evaluar patrones de migración (Herzka, 2003).

Típicamente, los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en los consumidores presentan un mayor enriquecimiento con relación al alimento consumido, debido a que los isótopos ligeros ( $^{12}\text{C}$  y  $^{14}\text{N}$ ) son respirados o excretados durante los procesos metabólicos. Mientras que la retención de los isótopos pesados ( $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$ ) con cada incremento sucesivo en el nivel trófico resulta en un enriquecimiento aproximado de 3.4‰ en  $\delta^{15}\text{N}$  (DeNiro & Epstein, 1981; Minagawa & Wada, 1984; Peterson & Fry, 1987) y de 0-1‰ para la razón isotópica en  $\delta^{13}\text{C}$  (DeNiro & Epstein 1978) por lo que es utilizada para indicar la contribución relativa de diferentes fuentes primarias a la dieta en una red trófica, mientras que en el caso del nitrógeno permite conocer el hábitat de las presas y nivel trófico (Hobson *et al.*, 1995; Hansson *et al.*, 1997; Schell *et al.*, 1998; Díaz-Gamboa, 2003).

Por convención internacional, los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  están expresados en relación a un estándar de carbonato de calcio conocido como "Pee Dee Belemnita" (PDB), un fósil de *Belemnitella americana* formado en Carolina del Sur durante el periodo cretácico el cual presenta una razón absoluta de 0.0112372 (Craig, 1957). Mientras que para el  $\delta^{15}\text{N}$  el estándar internacional es el  $\text{N}_2$  atmosférico y su razón absoluta es de 0.003677 (Román-Reyes, 2003).

Se mencionan algunas de las investigaciones realizadas con isótopos estables de nitrógeno y carbono:

En cuanto a estudios realizados en aves, Chamberlain *et al.* (1997) evaluaron el uso de isótopos estables para identificar el origen geográficos de las poblaciones migratorias del ave migratoria *Dendroica caerulescens*, quienes examinaron la composición isotópica del hidrógeno (Deuterio,  $\delta D$ ), del carbono ( $\delta^{13}C$ ) y del Estroncio ( $\delta^{87}Sr$ ) en su área de crianza correspondiente al este de Norteamérica. Encontraron que los valores del  $\delta D$  y del  $\delta^{13}C$  en las plumas que desarrollan en el área de crianza, variaron sistemáticamente a lo largo de un gradiente latitudinal, presentando los valores más altos en el área de crianza de Georgia y los más bajos en Canadá. Estos patrones fueron consistentes con la variación geográfica en la composición isotópica del ambiente natural, es decir, con el de la precipitación, las plantas, y los suelos, indicando que estos individuos eran de poblaciones de crianza norteañas. Además, la variabilidad isotópica en muestras de áreas invernales tendió a ser más grandes que las de verano, sugiriendo que los individuos de diversos lugares de crianza pueden mezclarse en hábitats de invierno.

Jaume-Schinkel (2004) analizó los hábitos alimentarios de la ballena rorcual común *Balaenoptera physalus* en el Golfo de California mediante el uso de isótopos estables de nitrógeno y carbono. El análisis indicó que durante la temporada fría se alimenta del eufásido *Nyctiphanes simplex* en zonas costeras, mientras que en la temporada cálida presenta un mayor consumo de presas de nivel trófico mayor y está más alejada de la costa observando un cambio de dieta del rorcual común entre temporadas.

Para el caso de elasmobranquios, Aguilar-Castro (2003), realizó un estudio sobre la ecología trófica de *Sphyrna lewini* en el sur del Golfo de California. En este trabajo los valores isotópicos mostraron que los juveniles de *S. lewini* tienen una posición trófica mayor ( $\delta^{15}N = 20.1$  a  $21.8\%$ ) en relación con los adultos ( $\delta^{15}N = 19.0$  a  $19.2\%$ ), lo cual indica que se mantienen agrupados dependiendo su estado de madurez alimentándose cada grupo de especies presas diferentes.

Estrada *et al.* (2003), estudiaron la posición trófica (PT) de cuatro especies de tiburones del noroeste del Océano Atlántico usando isótopos estables de carbono y nitrógeno en tejido muscular. Encontraron que *Cetorhinus maximus* tuvo la PT más baja (3.1) con un valor de

$\delta^{15}\text{N}$  de 10.4‰, mientras que *Alopias vulpinus* tuvo los valores más altos con PT de 4.5 y un valor de  $\delta^{15}\text{N}$  de 15.2‰. *Isurus oxyrinchus* presentó una variación considerable en la PT y los valores isotópicos, posiblemente debido a su alimentación tanto en aguas costeras como oceánicas. *Alopias vulpinus* tuvo valores de  $\delta^{15}\text{N}$  considerablemente más elevados que *Prionace glauca* e *Isurus oxyrinchus*, sugiriendo un tipo diferente de presas. No encontraron diferencias significativas entre los valores de PT calculados con base en isótopos y las derivadas de los análisis de contenidos estomacales, por lo que ambas técnicas arrojan resultados similares.

MacNeil *et al.* (2005), compararon las diferencias isotópicas entre tejidos como son el hígado, músculo y cartílago de tres especies de tiburón (*Prionace glauca*, *Isurus oxyrinchus* y *Alopias vulpinus*) provenientes del Atlántico noroccidental para demostrar el comportamiento de los tejidos con los cambios de dieta. En el caso de *Isurus oxyrinchus* encontraron valores mayores de  $\delta^{15}\text{N}$  en hígado ( $15.36 \pm 0.45\%$ ) que en músculo y cartílago ( $12.93 \pm 0.65\%$  y  $11.79 \pm 0.33\%$ , respectivamente), lo cual lo atribuyen a un cambio en la dieta y al metabolismo de los tejidos mientras que en el caso de *Prionace glauca* y *Alopias vulpinus* encontraron valores muy similares en los tres tejidos, debido a una dieta más estable y un metabolismo más lento.

Torres-Rojas (2006) utilizó la razón de isótopos estables de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  para comparar los resultados obtenidos en contenido estomacal en tiburón martillo (*Sphyrna lewini*) en el área de Mazatlán, Sinaloa. Observo variabilidad isotópica entre los tejidos muscular y hepático, por lo que menciona que las posibles diferencias isotópicas estarían en relación con lo asimilado por cada tejido. Además menciona que el análisis de isótopos estables de nitrógeno y carbono es una herramienta útil y complementaria a la descripción y cuantificación de la dieta del tiburón martillo.

### 2.3 VARIACION ISOTOPICA DE NITROGENO ( $\delta^{15}\text{N}$ ) Y CARBONO ( $\delta^{13}\text{C}$ ).

La técnica de isótopos estables de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  se ha reportado eficaz en estudios de posiciones tróficas relativas, historial alimentario y relaciones tróficas en ambientes marinos (Hooker *et al.*, 2001; Hoekstra *et al.*, 2002; Lesage *et al.*, 2002). Sin embargo, a pesar de que

la precisión del análisis es muy alta, esta técnica también tiene ciertas limitaciones prácticas, principalmente en el proceso metodológico, el cual requiere de algunos supuestos que se ven afectados por varias fuentes de variación, lo que podría limitar la interpretación de los resultados y no siempre es la más adecuada (Gearing, 1991; Román-Reyes, 2003).

### **Variación isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre regiones.**

La variación isotópica de carbono y nitrógeno de los productores primarios en una región puede ser afectada por la intensidad de luz, concentración de nutrientes y composición específica (Gearing, 1991; Smit, 2001). La composición isotópica de la base de la red trófica tiende a estar enriquecida en bajas latitudes en comparación a altas latitudes (Rau *et al.*, 1992; Burton & Koch, 1999). Esta composición también puede ser alterada, en ambientes costeros, por la influencia de aportes terrígenos como fertilizantes, aguas de desecho y restos de plantas, entre otros (Gearing, 1991; Smit, 2001). Varios autores aseguran que durante las rutas migratorias de algunos animales sus valores isotópicos son afectados por la variación en los valores de los productores primarios como consecuencia de factores oceanográficos recientes en un área determinada. Este hecho ha sido de gran importancia para estudiar las rutas migratorias estacionales de ballenas y aves marinas (Best & Cshell, 1996; Minami & Ogi, 1997).

### **Variación isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en relación a su tasa de crecimiento.**

Una de las causas de la variación en  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  que no están asociadas con las fuentes primarias son aquellas que se producen dentro de cada organismo. Es importante señalar que la tasa de crecimiento de un organismo también determina la rapidez de la variación isotópica. En animales grandes, la tasa de crecimiento es lenta, de tal manera que el recambio isotópico está más relacionado al mantenimiento del metabolismo que a la tasa de crecimiento. (Hobson *et al.*, 1993; Scrimgeour *et al.*, 1995; Garves *et al.*, 1997). También se ha sugerido que entre los organismos adultos, los animales grandes muestran tasas de recambio de carbono y nitrógeno más lentas que los animales pequeños (Tieszen *et al.*, 1983). La tasa de recambio está directamente relacionada con la tasa metabólica, puesto que se ha demostrado que los

animales pequeños tiene una tasa metabólica más rápida que los animales grandes (Schmidt-Nielsen, 1983).

### **Variación isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre tejidos.**

Los cambios de la dieta en el corto plazo pueden ser observados en tejidos con una tasa de recambio más rápida (Schmidt *et al.*, 1999) mientras que los tejidos con tasa de renovación más lenta proporcionan información de la dieta promediada en un periodo de tiempo aproximado a la longevidad del individuo (Román-Reyes, 2003). Si se desea obtener información de la dieta de un organismo en un intervalo de tiempo corto (horas), es necesario coleccionar tejidos como la sangre. Tieszen *et al.* (1983) recomiendan analizar las razones isotópicas de varios tejidos del mismo individuo y con diferentes tasas de recambio para obtener una indicación del tipo de alimento asimilado en el corto y largo plazo.

Muchos estudios que utilizan los isótopos estables para determinar las relaciones tróficas en los ecosistemas suponen una fraccionación isotópica constante entre la fuente de alimento y el consumidor. Sin embargo, Hobson *et al.* (1996) utilizando muestras sanguíneas de una foca, la cual fue alimentada con una dieta constante durante dos años, mostraron valores muy bajos de  $\delta^{15}\text{N}$  con enriquecimientos cercanos al 1.7%, diferente a lo reportado comúnmente (2-3%), lo que demuestra que la fraccionación depende del tipo de tejido analizado (Hobson & Clark, 1992).

A partir de lo mencionado anteriormente, se considera que la elección de un tipo de tejido tiene un efecto significativo en los valores isotópicos de los organismos (DeNiro & Epstein, 1978; Tieszen *et al.*, 1983; Stephenson *et al.*, 1984). Por ejemplo, los estudios muestran que es evidente que ciertos tejidos tales como el hígado y el páncreas muestran valores más negativos en  $\delta^{13}\text{C}$  cuando se comparan con otros tejidos. Esa variación se atribuye a las diferencias en la composición bioquímica de los tejidos; como sucede en tejidos con una mayor proporción de lípidos, los cuales muestran valores de  $\delta^{13}\text{C}$  más negativos (Smith & Epstein, 1970; Tieszen *et al.*, 1983).

A la fecha, la forma en que los tejidos varían en términos de  $\delta^{15}\text{N}$  ha sido difícil de entender, aunque existen antecedentes que esto puede reflejar la abundancia relativa de diferentes

aminoácidos en los tejidos (Gaebler *et al.*, 1966). Se conoce que algunos aminoácidos que son totalmente sintetizados o parcialmente modificados dentro del organismo experimentan cambios en  $\delta^{15}\text{N}$  de gran magnitud.

El músculo blanco en peces, tales como atunes, barriletes y macarelas, es rico en el aminoácido histidina libre (Shiau *et al.* 1997) por lo que, Gaebler *et al.* (1966) sugieren que llega a estar más enriquecido en  $^{15}\text{N}$  con respecto a la dieta, aún cuando este es un aminoácido esencial. En los elasmobranquios, los aminoácidos carnosina y anserina se encuentran presentes en cantidades importantes los cuales pueden ser sintetizados a partir de la histidina. En consecuencia, el mayor enriquecimiento de  $^{15}\text{N}$  puede ser una característica común en el tejido blanco de los peces, en relación a otros tejidos.

También se ha demostrado que la tasa del carbono procedente de una dieta puede ser remplazada con una dieta de señal isotópica diferente, esto puede depender del tiempo de recambio del tejido en cuestión y por consiguiente de la actividad enzimática metabólica de ese tejido (Tieszen *et al.*, 1983). Por ejemplo, el colágeno tiene una tasa de renovación más lenta que otros tejidos, por lo tanto la composición isotópica de su dieta se reflejara en un periodo más largo de tiempo que el hígado o el tejido muscular, los cuales tienen una tasa de recambio más rápida.

## 2.4 COMPOSICIÓN MUSCULAR DE LOS ELASMOBRANQUIOS

El cuerpo de los peces, como el de los cefalocordados, está constituido por una serie de segmentos musculares que se insertan en el esqueleto axial típico de estos animales. Los músculos de los tiburones son más simples en arreglos que muchos de los vertebrados tetrápodos, ya que presentan diferencia en cuanto a su fisiología, hábitos alimenticios, el medio en el que viven y por lo tanto en su locomoción (Lozano 1970). Los músculos del tronco de los tiburones y otros peces consisten en una serie de arreglos de segmentos a lo largo de ambos lados del cuerpo. La aleta, tronco y la cabeza son músculos voluntarios en contraste con los que se encuentran en el corazón y en los órganos viscerales que son involuntarios. En el caso de los escualos, los músculos voluntarios los conforman un grupo axial de músculos somáticos, los cuales, se distribuyen desde la aleta caudal hasta la cabeza (Fig. 1).

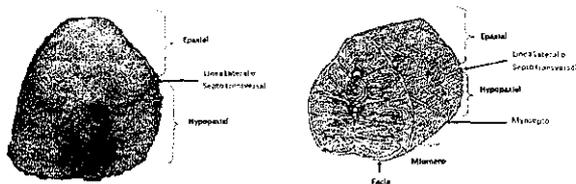


Figura 1.- Corte transversal de la zona del tronco en un elasmobranquio (distribución de los diferentes paquetes musculares: epiaxial e hipoaxial).

Las contracciones de ciertas secciones de los músculos actúan directamente sobre la columna vertebral produciendo el típico movimiento de propulsión (nado de lado a lado) el cual es característico en la locomoción de la mayoría de los peces (Lozano 1970).

### Existen tres tipos de músculos en elasmobranquios:

- Músculos de la cabeza [mandíbula y branquiales (hipobranquial ventralmente y epi-branquial dorsalmente) y músculos oculares] (Fig. 2).

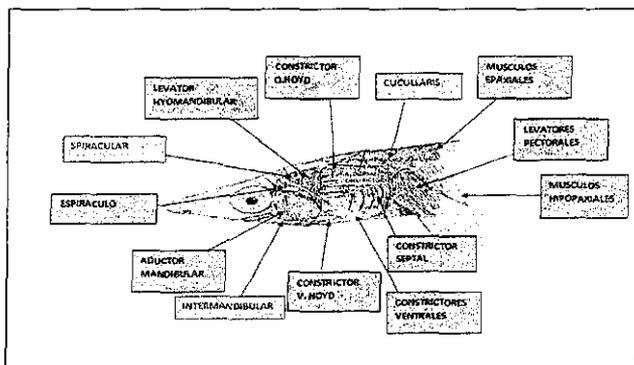


Figura 2.- Musculatura de la parte anterior del cuerpo de un elasmobranquio y la vista lateral del músculo epiaxial e hipoaxial.

- Músculos del tronco, los cuales están distribuidos en miómeros (paquetes musculares) a lo largo de los músculos (epiaxial inervado por la rami dorsal e hipoaxial inervado por la rami-ventral) y están delimitados y organizados por segmentos de tejido conjuntivo llamados mioseptos (Fig. 3).

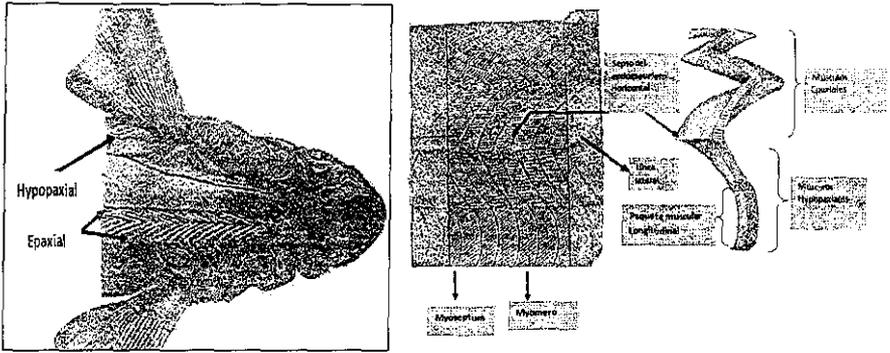


Figura 3.- Distribución de los paquetes musculares epiaxial e hipaxial y como se insertan en la parte superior y al costado de la cabeza.

- Músculos de las aletas (pares e impares) (Fig. 4).

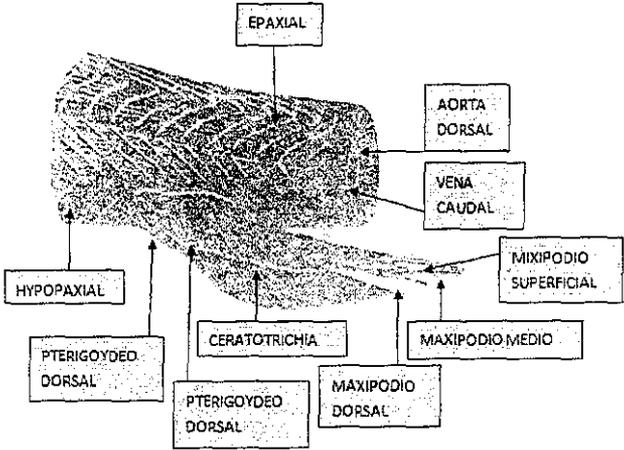


Figura 4.- Paquetes musculares que se distribuye a lo largo de cuerpo hasta la zona caudal.

## 2.5 IMPORTANCIA ECOLOGICA Y ECONOMICA DE LOS TIBURONES.

Por varias décadas, la explotación comercial de tiburones se ha convertido en una tradición para los pescadores mexicanos, siendo así una fuente importante de las actividades pesqueras realizadas en México. En 1984 y 1985, los análisis de los ingresos producidos muestran al recurso tiburón como una de las actividades pesqueras importantes en México, representando el 3% del total de los ingresos (Bonfil *et al.*, 1990).

Aunque no siempre se aprovecha en su totalidad, el tiburón tiene múltiples usos, siendo su carne la que cuenta con una mayor demanda (consumo humano), pero en términos de exportación tienen más valor otros productos como las aletas (platillos orientales), la piel y los dientes los cuales son utilizados para artesanías (Bonfil *et al.*, 1990; Romeu, 2001).

Los tiburones se caracterizan por tener un crecimiento lento, madurez tardía, una fecundidad baja y periodos de gestación largos, lo cual hace que sean sensibles a la sobreexplotación, y a una recuperación lenta de los niveles poblacionales (Holden, 1974; Romeu, 2001). Además, los tiburones juegan un papel importante como depredadores superiores en los ecosistemas marinos, al regular el balance de la cadena alimenticia. De esta manera, los efectos de una pesquería excesiva de tiburón afectarían la estructura de los ecosistemas (Castillo-Geniz, 1992).

## 3. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE *Mustelus henlei*

### 3.1 Generalidades de la familia

El cazón *Mustelus henlei* (Gill, 1863) también conocido como *Triakis henlei* (Nombres vernáculos: FAO: Esp- Musola parda; Fr- Emissole brune; In- Brown smooth) pertenece a la familia *Trikidae* y están ampliamente distribuidos en mares tropicales, templados y fríos, desde aguas someras hasta profundidades moderadas (300mts o más). Se alimentan de invertebrados del fondo (especialmente crustáceos, pero también de moluscos y poliquetos), pequeños peces óseos y huevos de peces (Compagno *et al.*, 1995).

**Tallas de madurez y nacimiento:** presentan una talla al nacer entre 19 y 21 cm y alcanza tallas máximas de 95 cm de longitud total (LT); los machos maduran entre 52 y 66 cm y las hembras maduran entre 51 y 63 cm (Compagno *et al.*, 1995).

- Cuerpo bastante esbelto. Cabeza corta, longitud prepectoral 19 a 22% de la longitud total; hocico moderadamente largo, formando un ángulo romo a aguzado en vista lateral (Compagno *et al.*, 1995).



vista ventral de la cabeza

Figura 5.-Vista ventral de la cabeza del tiburón *Mustelus henlei*

- Longitud preoral 6,4 a 8 % de la longitud total; distancia internarial grande, 2,6 a 3,4% de la longitud total; ojos grandes, su longitud comprendida de 1,9 a 2,9 veces en la longitud preorbitaria; espacio interorbitario 3,9 a 5,3% de la longitud total; boca bastante larga, su longitud subigual a aquella del ojo y 2,7 a 3,8% de la longitud total; surcos labiales superiores más largos que los inferiores (Compagno *et al.*, 1995).

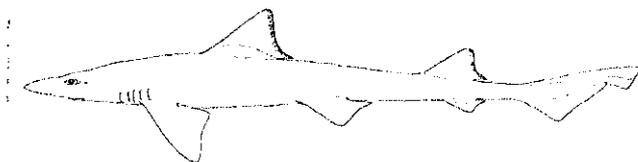


Figura 6.-Vista horizontal del cuerpo completo del *M.henlei*

- Dientes asimétricos, con una cúspide primaria bastante fuerte y cúspides accesorias generalmente presentes en todas las tallas; denticulos buco-faríngeos confinados al tercio anterior del paladar y de la lengua. (Compagno *et al.*, 1995).



Figura 7.- Vista frontal de la dentadura tanto superior e inferior de la mandíbula del *M. henlei*.

- Espacio interdorsal 19 a 24% de la longitud total; bordes posteriores de las aletas dorsales, y ocasionalmente de la anal y caudal, con una ancha franja de ceratotriquios expuestos; primera aleta dorsal ampliamente triangular, de borde posterior oblicuo hacia atrás y abajo, punto medio de su base más cercano a las bases de las aletas pélvicas que de aquellas de las pectorales; aletas pectorales y pélvicas de tamaño moderado, longitud del borde anterior de las pélvicas 6,2 a 7,9% de la longitud total; altura de la aleta anal 2,7 a 3,8% de la longitud total; espacio anal-caudal mayor que la altura de la segunda dorsal; lóbulo ventral de la aleta caudal más o menos falciforme en adultos (Compagno *et al.*, 1995).
- Denticulos dérmicos de la región lateral del cuerpo con coronas más o menos tricúspides, acanaladas en toda su extensión. Número de centros precaudales monoespondilicos 39 a 45, diploespondilicos 54 a 65, centros precaudales 97 a 106. Color: dorso generalmente cobrizo- marrón iridiscente, ocasionalmente grisáceo, vientre blanco; sin manchas blancas u oscuras ni barras oscuras verticales (Compagno *et al.*, 1995).

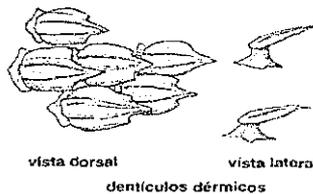


Figura 8.-Vista de ambas perspectivas de los denticulos dérmicos del *M. henlei*

## 4. JUSTIFICACIÓN

Desde el punto de vista económico, la importancia de estudiar la biología de los tiburones es muy importante para establecer medidas de manejo pesquero o de conservación. La pesquería de tiburones se encuentra entre los primeros lugares a nivel nacional, siendo una de las principales pesquerías generadora de divisas para la población. Mientras que desde el punto de vista ecológico, a nivel internacional se ha observado que estos depredadores son considerados como denso-reguladores de diferentes poblaciones de peces, por lo que esta catalogados como especies claves en el equilibrio de un ecosistema.

Sin embargo, en México los estudios realizados para el conocimiento biológicos de estos depredadores a la fecha son escasos, por lo que es necesario realizar estudios ecológicos de cada especie de tiburón, con el fin de tener elementos biológicos-pesqueros sólidos para recomendar medidas adecuadas para asegurar su conservación, en particular aquellos estudios dirigidos al conocimiento de la ecología trófica, con los que podremos entender el papel funcional de los tiburones dentro de un ecosistema.

Los estudios de ecología trófica han sido realizados en fechas recientes con la técnica de isótopos estables de Carbono y Nitrógeno en músculo dorsal de los organismos (incluyendo tiburones), la cual ha demostrado ser de gran utilidad a nivel ecológico. Sin embargo, se ha observado que dependiendo del tejido recolectado es la marca isotópica que va presentar, mostrando cierta variación en los valores dentro de un organismo. Aunado a esto, es muy poco el conocimiento que se tiene sobre la variación isotópica dentro de un mismo tejido, por lo que la comparación de resultados entre organismos así como su interpretación trófica ser diferente.

A partir del presente estudio realizado en el tiburón *Mustelus henlei* se logrará conocer la variación isotópica dentro de un organismo, dependiendo el tipo de tejido muscular recolectado, lo que permitirá hacer una interpretación más adecuada de los valores isotópicos y a su vez tratar de aplicarlo a todas las especies de tiburones. Además con éste tipo de información se podrá recomendar cual parte del tiburón es la más adecuada dependiendo el estudio a efectuar.

## 5. HIPÓTESIS

H0: Considerando que existen diferencias isotópicas entre tejidos de diferentes especies (musculo vs hígado), se espera que al comparar un mismo tipo de tejido (tejido muscular), los valores isotópicos de C y N sean similares, por lo que la variación será mínima o nula.

Ha: Se espera que existan diferencias isotópicas de las diferentes secciones musculares del cuerpo (cabeza, cuerpo y cola) del tiburón *Mustelus henlei* considerando que presenta dos tipos de paquetes musculares (epiaxial e hipoaxial) a lo largo de su cuerpo, lo que puede derivar en la presencia de diferentes componentes (tipos de aminoácidos, presencia de lípidos), lo que ocasiona variación isotópica.

## 6. OBJETIVO GENERAL

Determinar la variación isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en musculo del tiburón cazón *Mustelus henlei* de la costa occidental de Baja California Sur.

### 6.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar los valores isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  y la variación de la relación C:N en el musculo de *M. henlei*.
- Determinar la variación isotópica del musculo epaxial e hypopaxial a nivel longitudinal en el tiburón *M. henlei*.
- Determinar la variación isotópica del musculo epaxial e hypopaxial en diferentes profundidades de corte en el tiburón *M. henlei*.
- Determinar las diferencias intermusculares (epaxial vs hypopaxial) en el tiburón *M. henlei*.

## 7. ÁREA DE ESTUDIO

La colecta del tiburón cazón (*Mustelus henlei*) se realizó en la costa occidental de Baja California Sur, en el campo pesquero de Punta Lobos (PL) ubicado en 23° 24' 27'' Latitud Norte y 110° 13' 58'' Longitud Oeste (Fig. 5). La plataforma costera de esta localidad se caracteriza por ser reducida y de accidentado relieve (Schmitter-Soto, 1992).

En la localidad la circulación de las aguas superficiales está en relación con el patrón de vientos, por lo que, durante el invierno, es dominante hacia el sureste. Permitiendo el mayor desarrollo de la Corriente de California, la cual tiene su origen en los 40° N extendiéndose hasta 1000 Km. de distancia de la costa. Esta corriente se presenta a profundidades de 100 y 300 m, siendo más intensa durante la primera mitad del año (Álvarez-Arellano, 1987).

En el verano, el viento es dominante hacia el noroeste ocasionando que la Corriente de California gire hacia el oeste continuando como parte de la Corriente Norecuatorial y recibiendo agua de la Contracorriente Ecuatorial. El encuentro de las dos o tres masas de aguas de diferente propiedad influye en la costa occidental y suroriental de Baja California provocando un impacto biológico significativo en las poblaciones debido a la alta productividad por el afloramiento de plancton (Álvarez-Arellano, 1987; Franks, 1992; Torres-Orozco, 1993).

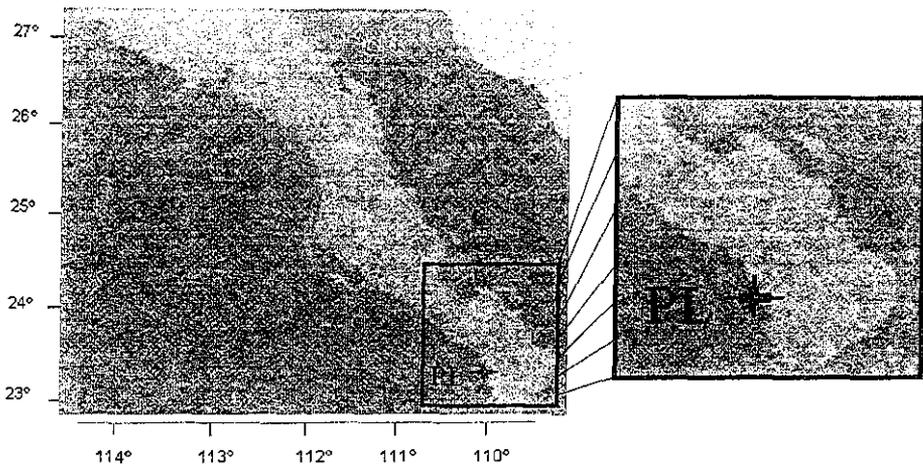


Figura 9.- Área de estudio. Ubicación del campo pesquero y zona de operaciones (PL = Punta Lobos).

## 8. MATERIAL Y METODOS

### 8.1 TRABAJO DE CAMPO

Para la muestra de tejido, se obtuvo un solo organismo de *Mustelus henlei* capturado por la cooperativa pesquera de Punta Lobos ubicado a 15 km al sur del poblado de Todos Santos Baja California Sur, el muestreo se realizó durante la fecha del 14 de Mayo del 2009. En la cooperativa se utiliza el chinchorro para la captura de *M. henlei*. La muestra se obtuvo inmediatamente después del arribo de las embarcaciones (Pangas de 7.2 metros de eslora) y fue colocada inmediatamente en una hielera con hielo para su conservación y transportación al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) ubicado en La Paz Baja California Sur. Posteriormente se almacena en frigoríficos industriales para su futuro procesamiento.

El organismo elegido para realizar el presente estudio fue un ejemplar macho de *Mustelus henlei* ya que este tiene menos variantes fisiológicas como son la gestación y otros procesos como posibles cambios ontogénicos que podrían dar como resultado conclusiones isotópicas erróneas. Referente a la toma de tejido muscular del tiburón *M. henlei*, se realizó a lo largo del organismo en diferentes zonas, estableciéndose un criterio de selección, el cual es el siguiente:

Utilizando diferentes partes del cuerpo del organismo (cabeza, parte ventral y dorsal del tronco, así como cierta parte caudal) como referencia. Se procedió a la toma de tres muestras de cada sección, quedando establecidas 5 zonas dorsales y 4 zonas ventrales. Dado que el tejido de las aletas puede ser un artefacto endógeno se evitó cualquier corte cerca de las aletas.

Las muestras del músculo se seleccionaron desde la parte exterior del cuerpo, continuando con la siguiente capa y la subsiguiente con dirección a la columna vertebral (área ubicada a la mitad del grosor del tronco hacia el interior del músculo) para finalmente tomar una muestra de tejido muscular cerca de la columna vertebral. Una vez establecidas las zonas, se procedió a la toma de tejido de la siguiente manera, de acuerdo con la fisonomía y lenguaje técnico explicado en la siguiente ilustración (Fig. 6):

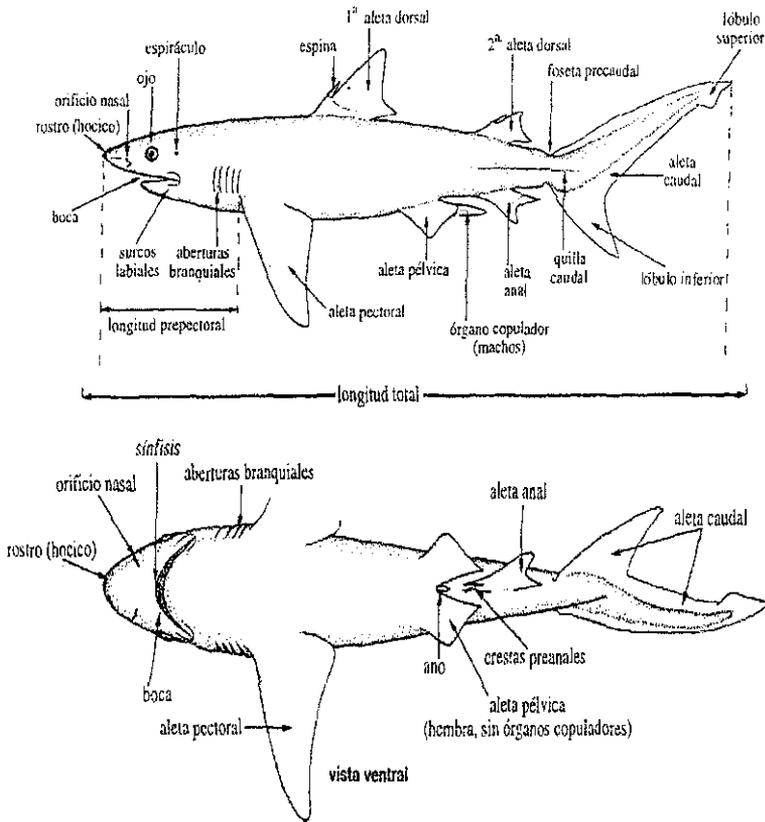


Figura 10.- Vista horizontal y ventral del cuerpo completo de un tiburón, donde se muestra el nombre técnico de cada una de las partes que componen externamente al organismo.

## 8.2 TRABAJO DE LABORATORIO

### 8.2.1 Elaboración de cortes para tejido.

Se utilizó bisturí, cuchillo, pinzas, viales, los cuales fueron previamente limpiados con jabón bactericida, agua oxigenada y cloroformo-metanol (1:1) para la esterilización y evitar una contaminación entre cortes. Además del uso de guantes de látex, para la realización de los cortes y la toma de tejido muscular. Cabe destacar que solo se tomaron muestras de tejido

muscular de lado izquierdo de la simetría del organismo con el fin de hacer comparables las muestras obtenidas y evitar sesgos en los resultados.

## 9. DETERMINACION DE ZONAS DE CORTES

### 9.1. DATOS DE LOS CORTES

Organismo (*Mustelus henlei* Macho), Medida del ejemplar: 74.2 cm “LT”. Peso total: 1321.99 g.

**CORTE 1:** Que corresponde a las muestras (1d, 1v).

Longitud: 7.5 cm.

Peso: 20.82 g.

La zona “1d” va desde el inicio de la caudal hasta el final de la segunda dorsal, Mientras que la zona “1v” fue determinada desde el final de la aleta anal hasta el inicio de la caudal. Tomando nuevamente desde la parte exterior y hacia el interior (cada paquete con tres replicas).

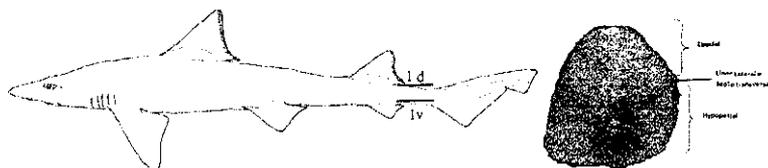


Figura 11.- Zona donde se realizaron los cortes en el cuerpo del *M. henlei* y sección con las replicas de realizadas en esta zona

Zona de Corte.	Numero de replicas
1 d	3, 3, 3.
1 v	3, 3, 3.

**CORTE 2:** Que corresponde a las muestras (2d, 2v).

Longitud: 10 cm.

Peso: 165.18 g.

La zona “2d” se efectuó desde el inicio de la segunda dorsal hasta la altura del final de las aletas pélvicas. Procediendo a tomar las tres muestras de la zona interna a la externa. Mientras que la zona “2v” fue determinada desde el final de las aletas pélvicas hasta la altura del inicio de la segunda aleta dorsal e inicio de la aleta anal.

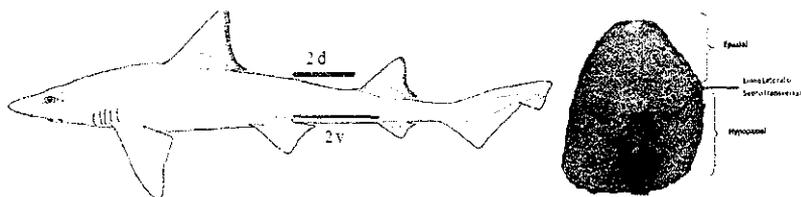


Figura 12.- Zona donde se realizaron los cortes en el cuerpo del *M. henlei* y sección con las replicas de realizadas en esta zona.

Zona de Corte.	Numero de replicas
2 d	3, 3, 3.
2 v	3, 3, 3.

**CORTE 3:** Que corresponde a las muestras (3d, 3v).

Longitud: 2.5 cm.

Peso: 90.38 g.

La zona “3d” va desde el final de la aleta dorsal y termina a la altura del inicio de las aletas pélvicas y considerando la recolecta de la parte exterior hacia la interior y la zona “3v” va desde el inicio de las aletas pélvicas hasta el final de la primera aleta dorsal.

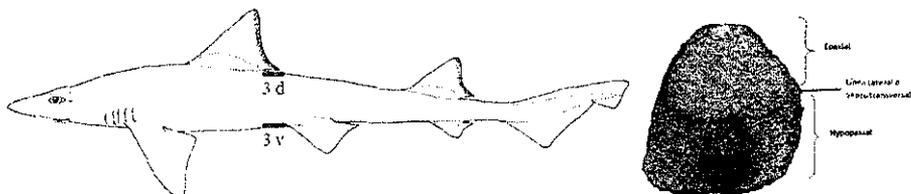


Figura 13.- Zona de los cortes en el cuerpo del *M. henlei* y sección con las replicas de esta zona.

Zona de Corte.	Numero de replicas
3 d	3, 3, 3.
3 v	3, 3, 3.

**CORTE 4:** Que corresponde a las muestras (4d, 4v).

Longitud: 11 cm.

Peso: 346.44 g.

La zona “4d” se tomo desde el inicio de la aleta dorsal hasta la altura de inicio de las aletas pectorales, procediendo los cortes de la zona externa a la interna y la zona “4v” va de la altura del final de la primera aleta dorsal hasta el final de las aletas pectorales.

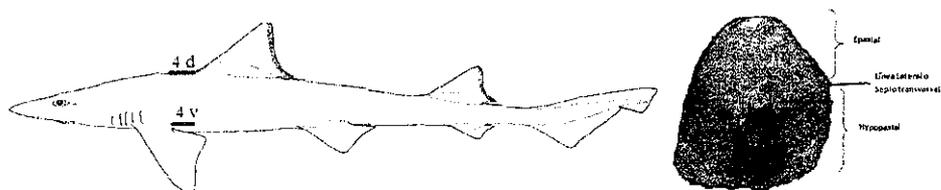


Figura 14.- Zona de los cortes en el cuerpo del *M. henlei* y sección con las replicas de esta zona.

Zona de Corte.	Numero de replicas
4 d	3, 3, 3.
4 v	3, 3, 3.

**CORTE 5:** Que corresponde a las muestras (5d).

Longitud: 8.8 cm.

Peso: 246.23 g.

La zona “5d” se determino y tomo muestras de la parte superior de la cabeza, donde inicia el músculo epiaxial.

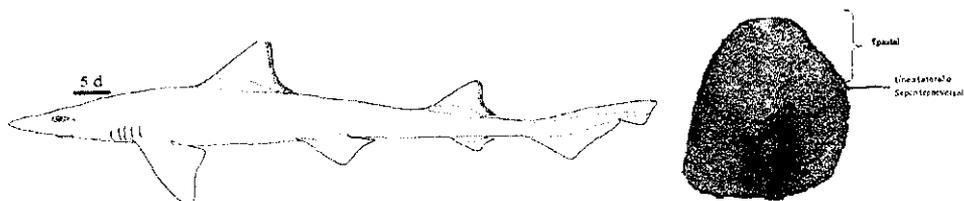


Figura 15.- Zona de los cortes en el cuerpo del *M. henlei* y sección con las replicas de esta zona.

Zona de Corte.	Numero de replicas
5 d	3, 3, 3.

### 9.1.1 Preparación de muestras para análisis isotópico.

Cada muestra de músculo fue secada, por lo que se sometieron a un proceso de deshidratación en un horno de secado (Horno marca Felisa) a una temperatura promedio de 58°C. Este proceso se realizo con la finalidad de eliminar cualquier cantidad de humedad que pueda

perjudicar en el análisis de espectrómetro de masas. Posteriormente se homogeneizó en un mortero de ágata hasta obtener un polvo fino. Una vez molida, se procedió a la toma de un submuestra de 600 microgramos, en una microbalanza analítica (Metler TOLEDO pro-fact MX5 Max= 5,1g d= 1μg), para ser almacenadas en cápsulas de estaño (3.5 x 5mm) previo al envío al laboratorio para el proceso de isotopos estables.

Se analizó el  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en el Laboratorio de química marina del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). Las sub muestras se analizaron en un Espectrómetro de Masas de Razones Isotópicas (DELTA V PLUS isotope ratio MS) de flujo continuo acoplado a un analizador elemental (Elemental Combustion System Costech Instruments). Los estándares utilizados en la calibración del espectrómetro para  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) fueron  $\text{CO}_2$  (99.8%) con referencia al estándar internacional de Pee Dee Belemnita "PDB" (-43.85) (Boutton, 1991) y para  $\delta^{15}\text{N}$  fue  $\text{N}_2$  (99.99%) con referencia al nitrógeno atmosférico (-0.21). Para expresar las diferencias relativas de las razones de los isótopos estables entre las muestras y los estándares, se utilizó la expresión  $\delta$ . Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  se calcularon a partir de las razones medidas en la muestra y la de los elementos estándares usando la expresión (Boutton, 1991):

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

Donde R es  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  para  $\delta^{15}\text{N}$  y  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  para  $\delta^{13}\text{C}$ . El  $\delta^{13}\text{C}$  se expresa en referencia al Estándar de PDB y el  $\delta^{15}\text{N}$  al nitrógeno atmosférico.

## 10. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se realizó un análisis de normalidad y homogeneidad de varianzas, esto con el fin de saber qué tipo de análisis utilizar (análisis paramétricos o análisis no paramétricos). Dado que se detectó normalidad pero no homogeneidad, se procedió a la aplicación de un análisis de varianza no paramétrico. Para detectar diferencias significativas dentro de un paquete muscular (ejemplo: epiaxial) se les aplicó la prueba estadística Kruskal-Wallis (ANOVA no paramétrico) para múltiples muestras independientes, en los casos donde se detectaron diferencias se procedió a la aplicación de una prueba a posteriori de Dunn's. para saber entre cuales categorías estuvieron las diferencias. Mientras que para la detección de diferencias significativas entre paquetes musculares se aplicó una prueba Mann-Whitney (comparación de medias) para dos muestras independientes.

## 11. RESULTADOS

### Datos generales.

Se realizaron 3 replicas de tejidos del cuerpo del tiburón, del cual se obtuvieron un total de 90 biopsias de *M. henlei* distribuidas dentro (profundidad) y a lo largo (longitud total) del organismo (Tabla 1). Se hicieron 45 biopsias al paquete muscular epiaxial, mientras que 36 corresponden al paquete muscular hipoaxial. Asimismo se realizaron 9 biopsias de tejido muscular general de cada corte.

Tabla 1.- Valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de cada muestra de tejido en los dos diferentes paquetes musculares.

Paquete muscular	Zona Corte	# de muestra	1er replica		2da replica		3er replica		Valores generales	
			$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$
Epiaxial	1 d	1	18.6	-15.9	18.6	-16.1	18.5	-16.1	18.8	-15.7
		2	18.2	-16.1	18.7	-16.0	18.5	-16.2		
		3	18.6	-16.1	18.2	-15.2	18.4	-16.1		
	2 d	4	18.4	-16.1	18.5	-16.2	18.3	-16.0	18.4	-15.8
		5	18.3	-16.1	18.4	-16.1	18.3	-16.1		
		6	18.2	-16.2	18.6	-15.9	18.3	-16.3		
	3 d	7	18.6	-16.1	18.5	-16.1	18.5	-16.2	18.3	-16.0
		8	18.5	-16.1	18.4	-16.0	18.8	-16.2		
		9	18.3	-16.0	18.6	-16.2	18.5	-16.2		
	4 d	10	18.9	-15.9	18.8	-16.1	18.9	-16.4	18.9	-16.4
		11	18.7	-16.0	18.8	-16.4	18.7	-16.3		
		12	18.7	-16.1	18.7	-16.3	18.7	-16.3		
	5 d	13	18.8	-16.1	18.8	-16.4	19.2	-16.3	19.0	-16.3
		14	18.7	-16.1	19.1	-16.2	19.3	-16.4		
		15	18.9	-16.1	18.9	-16.0	19.1	-16.3		
Hipoaxial	1 v	16	18.6	-16.0	18.8	-15.5	18.5	-16.1	19.0	-16.0
		17	18.6	-16.1	19.0	-15.5	18.4	-16.2		
		18	18.8	-15.7	18.7	-15.7	18.5	-16.2		
	2 v	19	18.5	-15.9	18.7	-15.9	18.3	-16.3	18.4	-16.2
		20	18.4	-15.8	18.8	-16.0	18.6	-16.2		
		21	18.4	-16.0	18.6	-15.8	18.6	-16.3		
	3 v	22	18.5	-15.9	18.8	-16.0	18.8	-16.3	18.4	-16.3
		23	18.4	-16.0	18.6	-16.0	18.8	-16.3		
		24	18.3	-15.9	18.7	-15.8	18.6	-16.2		
	4 v	25	18.5	-16.0	18.6	-16.0	18.4	-16.3	18.6	-16.4
		26	18.4	-16.0	18.5	-15.9	18.5	-16.3		
		27	18.4	-16.0	18.7	-16.0	18.7	-16.2		

### 11.1 VALORES ISOTÓPICOS DE $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ Y LA VARIACIÓN DE LA RELACIÓN C:N EN EL MUSCULO DE *M. henlei*.

De forma general se obtuvieron los siguientes datos de manera general en los isotopos  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  (Fig. 7): El intervalo de  $\delta^{15}\text{N}$  en el musculo de *M. henlei* en general fue de 18.2‰ a 19.3‰ con un promedio de  $18.60 \pm 0.23$ ‰. Mientras que en el  $\delta^{13}\text{C}$  fue de -16.40‰ a -

15.20‰ con un promedio de  $-16.07 \pm 0.20$ ‰. Cabe resaltar que en las comparaciones posteriores se dividieron los datos en la forma dispuesta en los paquetes musculares para facilitar la comparación de los datos obtenidos.

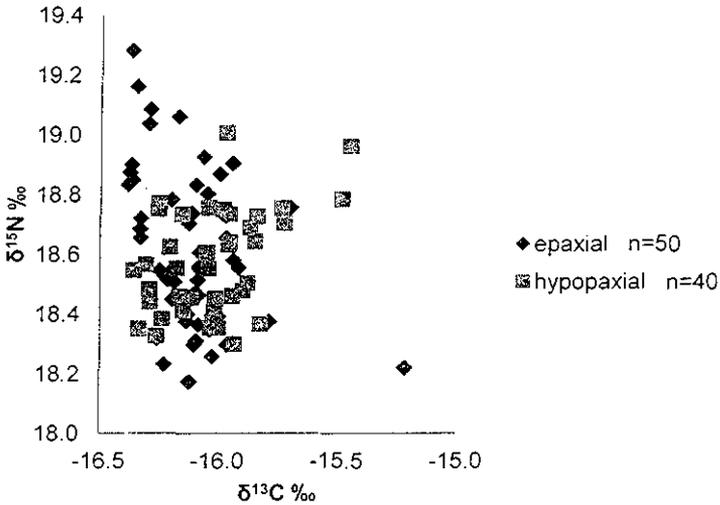


Figura 16.- Distribución de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de las zonas epiaxial e hipoaxial de *M. henlei*.

En el caso de la relación C/N los valores obtenidos en el músculo de *M. henlei* registraron un intervalo total de 2.934 a 2.939 con un valor promedio total de  $2.936 \pm 0.000$ . En el caso de la zona epiaxial se registro un intervalo de 2.934 a 2.939 con un promedio de  $2.936 \pm 0.000$ . Mientras en el hipoaxial se registro un intervalo de 2.935 a 2.937 con un valor promedio de  $2.936 \pm 0.000$  (Fig. 8).

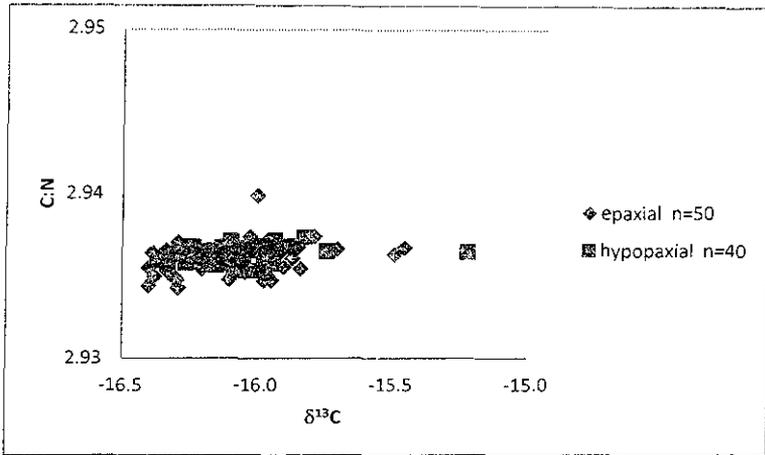


Figura 17.- Distribución de los valores de la relación C: N con respecto a los valores del  $\delta^{13}\text{C}$  en las zonas epiaxial e hipoaxial. (Línea punteada "límite de tejidos libres de lípidos de acuerdo con McConnaughey & McRoy, 1979").

## 11.2 VARIACIÓN ISOTÓPICA DEL MUSCULO EPIAXIAL E HIPOAXIAL A NIVEL LONGITUDINAL EN EL TIBURÓN *M. henlei*.

En la parte epiaxial a lo largo del cuerpo, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  a través de los cinco diferentes cortes se observó que el corte "5d" presentó los valores mayores  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  donde para nitrógeno tuvo un intervalo de 18.7 a 19.3‰ con un promedio de  $19.0 \pm 0.18\%$  y para carbono fue de -16.4 a -16.0‰ con un promedio de  $-16.2 \pm 0.14\%$ . Mientras el corte que presentó los valores menores fue "2d" obteniendo un intervalo de nitrógeno de 18.2 a 18.6‰ con un promedio de  $18.4 \pm 0.10\%$  y para carbono fue de -16.3 a -15.9 con un promedio de  $-16.1 \pm 0.10\%$ . Por lo que se encontraron diferencias significativas entre los diferentes cortes de la zona epiaxial en  $\delta^{15}\text{N}$  [ $H_{(4, 45)} = 32.57, p=0.000$ ], pero no en  $\delta^{13}\text{C}$  [ $H_{(4, 45)} = 6.56, p=0.161$ ] (Fig. 9).

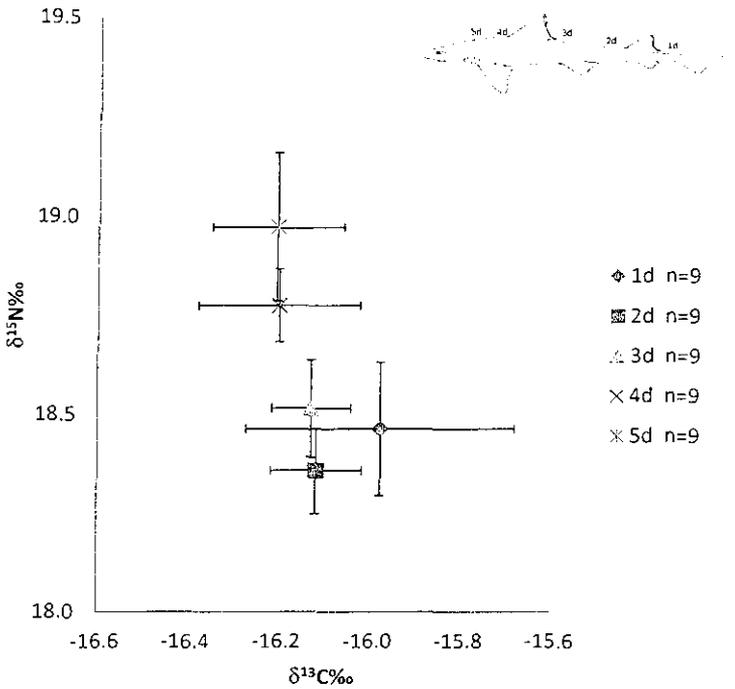


Figura 18.- Distribución de los valores promedio de los 5 cortes realizados a diferentes longitudes del paquete epiaxial.

En la parte hipoaxial a lo largo del cuerpo, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  a través de los cuatro diferentes cortes se observó que los valores más altos los presentó el corte “1v” presentando en  $\delta^{15}\text{N}$  un intervalo de valores de 18.4 a 19.0‰ con un promedio de  $18.6 \pm 0.18\text{‰}$  y en  $\delta^{13}\text{C}$  un intervalo de valores de -16.2a -15.5‰ con un promedio de  $-15.9 \pm 0.27$ . Mientras que los valores más bajos están presentes en el corte “4v” donde para  $\delta^{15}\text{N}$  presento un intervalo de 18.4 a 18.7‰ con un promedio de  $18.5 \pm 0.14\text{‰}$  y para  $\delta^{13}\text{C}$  presenta valores con un intervalo de -16.3 a -15.9 con promedio de  $-16.1 \pm 0.1$ . El análisis estadístico de Kruskal-Wallis no encontró diferencia significativa entre los diferentes cortes de la zona hipoaxial tanto en  $\delta^{15}\text{N}$  [ $H_{(3,36)}=3.18, p=0.364$ ] como en  $\delta^{13}\text{C}$  [ $H_{(3,36)}=2.88, p=0.409$ ] (Fig. 10).

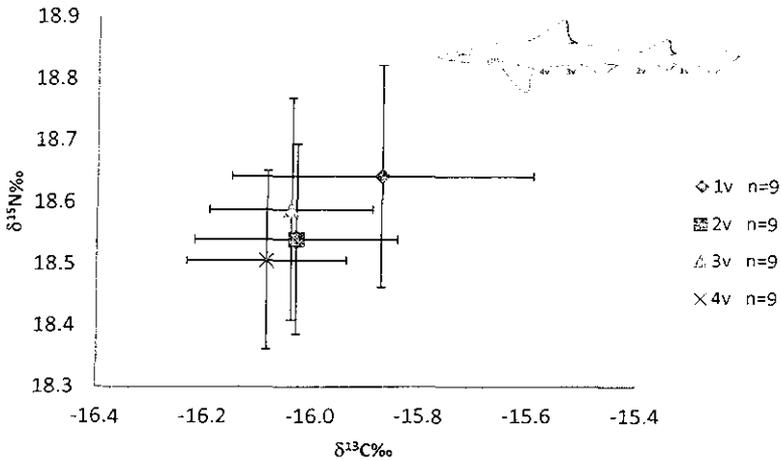


Figura 19.- Distribución de los valores promedio de los 4 cortes realizado a lo largo del paquete muscular hipoaxial.

### 11.3 VARIACIÓN ISOTÓPICA DEL MÚSCULO EPIAXIAL E HIPOAXIAL EN DIFERENTES PROFUNDIDADES DE CORTE EN EL TIBURÓN *M. henlei*.

De acuerdo al tipo de profundidad en los cortes, para el musculo epiaxial se observo en el corte exterior una variación de  $\delta^{15}\text{N}$  de 18.3 a 19.3‰ con un promedio de  $18.6 \pm 0.24\%$  y en el  $\delta^{13}\text{C}$  se obtuvo un intervalo de -16.1a -15.9‰ con un promedio de  $-16.1 \pm 0.14\%$ . La zona intermedia se caracterizo por presentar valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de 18.2 a 19.3‰ con promedio de  $18.6 \pm 0.30$  en  $\delta^{15}\text{N}$  y valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de -16.4 a -16.1‰ con un promedio de  $-16.1 \pm 0.12\%$ . Por último, el corte más profundo de los presento valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de 18.2 a 19.1‰ con un promedio de  $18.6 \pm 0.25\%$  y valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de -16.3 a -15.2‰ con un promedio de  $-16.1 \pm 0.3\%$  (Fig. 11). Al realizar el análisis Kruskal-wallis entre los cortes, no se detectaron diferencias significativas entre estas muestras, ni para  $\delta^{15}\text{N}$  [ $H_{(2, 45)} = 0.45$   $p = 0.794$ ] y para  $\delta^{13}\text{C}$  [ $H_{(2, 45)} = 0.17$   $p = 0.914$ ].

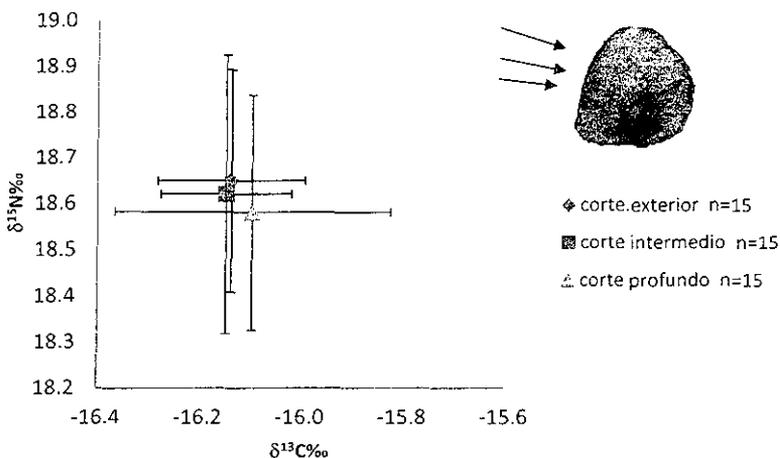


Figura 20.- Distribución de los valores promedio de las 3 profundidades analizadas en los diferentes cortes que se realizaron a diferentes longitudes del paquete epiaxial.

Para el musculo hipoaxial, en la zona exterior se detectaron los valores más altos en cuanto al  $\delta^{15}\text{N}$ , obteniéndose un intervalo de 18.3 a 18.8‰ con un promedio de  $18.6 \pm 0.16\text{‰}$  y para  $\delta^{13}\text{C}$  de -16.3 a -15.5‰ con un promedio de  $-16.0 \pm 0.22\text{‰}$ . Para la zona intermedia se obtuvieron valores con un intervalo de  $\delta^{15}\text{N}$  de 18.4 a 19.0‰ con un promedio de  $18.6 \pm 0.19\text{‰}$  y en  $\delta^{13}\text{C}$  un intervalo de -16.3 a -15.5‰ con un promedio de  $-16.0 \pm 0.22\text{‰}$ . Mientras que los valores más bajos se presentaron en el corte profundo los cuales reflejaron valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de 18.3 a 18.8‰ con un promedio de  $18.6 \pm 0.16\text{‰}$  y valores de  $\delta^{13}\text{C}$  con un intervalo de -16.3 a -15.7‰ con un promedio de  $-16.0 \pm 0.18\text{‰}$  (Fig.12). No se encontraron diferencias significativas en la diferentes profundidades analizadas en la parte ventral tanto en  $\delta^{15}\text{N}$  [ $H_{(2, 36)} = 0.09$   $p = 0.953$ ], como en  $\delta^{13}\text{C}$  [ $H_{(2, 36)} = 0.44$   $p = 0.800$ ].

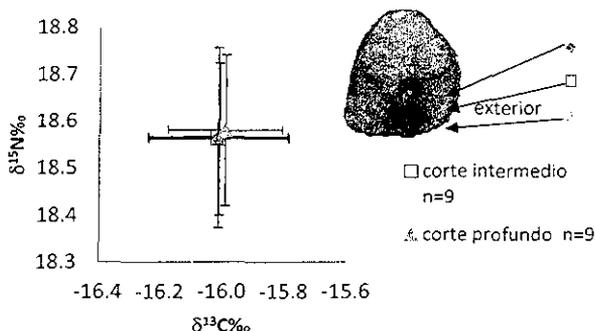


Figura 21. -Distribución de los valores promedio de las 3 profundidades analizadas en los diferentes cortes que se realizaron a diferentes longitudes del paquete hipoaxial.

#### 11.4 DIFERENCIAS INTERMUSCULARES (EPIAXIAL VS HIPOAXIAL) EN EL TIBURÓN *M. henlei*.

En la zona epiaxial, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  fue de 18.2 a 19.3‰, con un promedio de  $18.6 \pm 0.26\text{‰}$ . En el caso del  $\delta^{13}\text{C}$  se presentaron valores de -16.4 a -15.7‰, con un promedio de  $-16.1 \pm 0.20\text{‰}$ . La zona hipoaxial presento en  $\delta^{15}\text{N}$ , un intervalo de 18.3 a 19.0‰, con un promedio de  $18.6 \pm 0.17\text{‰}$  y los valores resultantes en el  $\delta^{13}\text{C}$  dieron un intervalo de -16.4 a -15.5‰ con un promedio de  $-16.0 \pm 0.21\text{‰}$  (Fig. 13). Al comparar los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  entre las zonas epiaxial e hipoaxial, se encontró diferencia significativa en  $\delta^{13}\text{C}$  ( $U=706.0000$ ,  $P=0.016$ ), mientras que en  $\delta^{15}\text{N}$  no se detectó diferencias significativas ( $U = 910.5000$ ,  $P=0.467$ ).

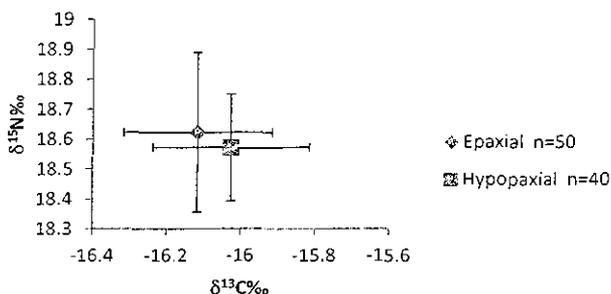


Figura 22.-Distribución de los valores promedios de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  de las zonas epiaxial e hipoaxial y sus desviaciones estándar.

## 12. DISCUSIÓN

El análisis de isótopos estables de Carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y Nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) han sido considerados como una herramienta para vincular la ecología trófica de diferentes especies (Zhao *et al.*, 2004), ya que ha permitido obtener una mejor estimación acerca de las interacciones tróficas de los organismos en una comunidad, a partir del análisis de la variación isotópica que presenta cada especie. Esta variación puede ser atribuida a tres factores principales como son: 1) las zonas de alimentación, 2) el tipo de dieta y 3) la fisiología de la especie (Aurioles-Gamboa *et al.*, 2009).

Sin embargo, un factor que no se considera en muchas ocasiones pero que tiene una influencia sobre la variación isotópica de un tejido es lo relacionado al método de conservación y procesamiento de muestras. En cuanto al método de conservación, Kim y Koch (2011) encontraron un cambio significativo en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y C:N para músculo de elasmobranquios preservados en etanol.

Además, estudios previos de teleósteos marinos encontraron que la preservación en etanol aumenta los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  cerca de 0.6-1.2‰ y 0.4–0.8‰, respectivamente (Kelly *et al.*, 2006). Sin embargo a diferencia de muestras preservadas con etanol, en el caso de muestras congeladas no se han encontrado cambios isotópicos (Kim & Koch 2011). En el presente trabajo, las muestras fueron conservadas en refrigeración desde su colecta, por lo que la variación isotópica estaría más relacionada a cuestiones fisiológicas que a cuestiones de conservación.

Con respecto al procesamiento de muestras, cuando se analizan tejidos con alto contenido de lípidos, la preparación de tejidos incluyen extracción de lípidos para evitar sesgos en la interpretación de valores isotópicos (Kim & Koch 2011).

Estas técnicas de extracción de lípidos usan diversas mezclas (cloroformo y metanol) para remover físicamente los lípidos de las muestras (Folch *et al.*, 1957) reduciendo las

concentraciones de lípidos uniformemente en un bajo nivel (Post *et al.*, 2007). Sin embargo, esta técnica puede ocasionar una fraccionación en el  $\delta^{15}\text{N}$  (Pinnegar & Polinnin 1999) con lo cual se pueden obtener valores diferentes de  $\delta^{15}\text{N}$ .

Estas altas concentraciones de lípidos en elasmobranchios por lo general se encuentran en el hígado. Sin embargo, también se recomienda la extracción de lípidos en el músculo. En el presente estudio, un indicador de la presencia de lípidos es la relación C:N donde valores mayores a 2.9 indicaría una presencia de lípidos en el tejido (McConnaughey & McRoy, 1979), considerando que todos los valores estuvieron por debajo de este valor teórico, se asumió que el músculo de *M. henlei* está libre de lípidos o su concentración es menor al 5% (Post *et al.*, 2007), por lo que la aplicación de una extracción de lípidos no fue necesaria.

Por otra parte, algunos autores optan por extraer la urea de sus muestras mediante diferentes técnicas (Sweering *et al.*, 2005; Kim & Koch, 2011). Logan & Lutcavage (2010) extrajeron urea y lípidos, utilizando cloroformo y metanol observando que esta técnica no provocaba cambio en los valores de C:N. Sin embargo, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  mostraron un incremento de 6% lo cual es considerado un cambio significativo con relación a lo reportado en otros trabajos (Logan & Lutcavage 2010, Kim & Koch 2011).

Por otra parte, existen otros métodos para la extracción de urea y lípidos, pero todos coinciden en que estos métodos causan cambios en el  $\delta^{15}\text{N}$  y C:N además que aun no se sabe la cantidad de urea y lípidos extraídos (Kim & Koch 2011). Además, se ha observado cambios pequeños en la composición de los aminoácidos en el tejido, donde se ha observado que la falta de aminoácidos en la composición en la muestra y los cambios en C:N son debidos a la extracción de urea y no por debido a cambios en la proteína residual (Kim & Koch, 2011).

Debido a algunas extracciones químicas de lípidos y urea pueden originar cambios en la variación isotópica de algunos tejidos. En este trabajo se procesaron valores reales de las muestras en relación al  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ , debido a que, las muestras musculares no fueron sometidas a ninguna extracción química.

Se carece de trabajos sobre la variación isotópica en un mismo tejido y se desconoce cuanto pueda variar isotópicamente en un mismo órgano, por lo cual el objetivo de este trabajo es buscar esa variación en los paquetes musculares más importantes de una especie de tiburón.

En el presente estudio se encontraron diferencias significativas de  $\delta^{13}\text{C}$  entre paquetes musculares y en  $\delta^{15}\text{N}$  a lo largo del cuerpo de *M. henlei*.

### **Variación isotópica de acuerdo a la zona de alimentación.**

Las variaciones en  $\delta^{15}\text{N}$  tanto a escala espacial como temporal han sido atribuidas a cambios en factores físicos y químicos (Goering *et al.*, 1990; Dawson & Brooks, 2001), como son la fijación y asimilación de  $\text{N}^2$  (Hoering & Ford, 1960; Mako *et al.*, 1982), la descomposición y remineralización (Miyake & Wada, 1971; Tieszen *et al.*, 1983; Checkley & Miller, 1989) y procesos biológicos de oxidación reducción tales como nitrificación y denitrificación (Miyake & Wada, 1971). Mientras que en el caso del  $\delta^{13}\text{C}$  sus variaciones están sujetas a procesos en el ciclo del carbono, principalmente con dos procesos metabólicos como son la respiración y la fotosíntesis (Farquhar *et al.*, 1989; Brugnoli & Farquhar, 2000), pero también con procesos bacterianos (bacterias metano-tróficas) y oceanográficos (corrientes, surgencias).

La variación isotópica de la clorofila a diferentes latitudes es diferente, en altas latitudes llega a presentar valores de  $-24$  en  $\delta^{13}\text{C}$  y  $3$  en  $\delta^{15}\text{N}$ , mientras que en latitudes medias se reportan valores de  $-22$  en  $\delta^{13}\text{C}$  y  $7$  en  $\delta^{15}\text{N}$  (Saino & Hattori, 1987; Goericke & Fry, 1994). En el caso de los organismos marinos se ha observado que el fitoplancton presenta valores de  $\delta^{13}\text{C}$  que varían entre  $-30$  a  $-18$  ‰ con un promedio típico de  $-22$  ‰ (Rau *et al.*, 1982). Mientras que los valores del zooplancton fluctúan alrededor de  $-20$  ‰ y los de los vertebrados marinos cerca de  $-17$  ‰, lo cual sugiere que hay un incremento progresivo de  $\delta^{13}\text{C}$  a lo largo de la cadena de alimentos, así como un reflejo de donde los consumió.

Considerando que ambos isótopos presentan un enriquecimiento continuo conforme se aumenta de nivel trófico, se podría suponer que las diferencias encontradas en el presente estudio estarían relacionadas con la presencia de diferentes marcas isotópicas en el organismo como resultado de sus movimientos entre dos zonas de alimentación (costera vs oceánica)

donde el paquete epiaxial presentaría una marca isotópica de una zona mientras que el hipoaxial de otra. Al respecto, Sampson (2007) a partir de tejido muscular, estudio la variación estacional y temporal en dos especies de la familia Myliobatidae las cuales reflejaron cambios estacionales en el  $\delta^{13}\text{C}$  durante el invierno. Lo anterior lo atribuye a la alimentación que presentan estas especies en dos zonas diferentes en el área de estudio, lo que les confiere una marca isotópica diferente.

En el presente estudio, el organismo muestreado de *M. henlei* fue capturado en el mes de Mayo del año 2009 y de acuerdo a datos obtenidos con los pescadores de la zona, esta especie se encuentra presente en las capturas desde los meses de Marzo-Abril, en la llamadas “corridas”, donde por lo general se mantienen dentro de las 10 millas náuticas toda la temporada, presentando poco movimiento entre una zona costera y oceánica. Por lo que las marcas isotópicas de *M. henlei* deberían ser en parte reflejo de las variables físicas o químicas de la zona en la estación del año en que fue colectado.

Si bien puede existir movimiento entre una zona costera y oceánica o el arribo de diferentes organismos a la zona de estudio, una de las cuestiones a considerar en el presente estudio son las variaciones encontradas en  $\delta^{15}\text{N}$  en el musculo epiaxial de la cabeza y la detectada en  $\delta^{13}\text{C}$  en el paquete muscular hipoaxial en comparación del epiaxial. Sería poco probable que se debieran a cambios ambientales ya que estas variaciones se encuentran en el mismo tiempo y espacio dentro del organismo, así que los valores de todos los paquetes musculares reflejarían la marca isotópica de la zona.

### **Variación isotópica de acuerdo al tipo de dieta.**

En el segundo factor, los experimentos sobre la influencia de la dieta en la variación de los isótopos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en los animales, indican que la composición isotópica de un organismo está determinada por el valor isotópico del alimento consumido (DeNiro & Epstein, 1981). Adams & Sterner (2000) mencionan que la discriminación isotópica del  $^{15}\text{N}$  ocurre en la síntesis de aminoácidos, en donde se excreta el isótopo más ligero y se retiene el pesado, ya que los isotopos pesados son más estables en sus enlaces químicos difíciles de romper

(Camalich-Carpizo, 2009), provocando una bioacumulación en los tejidos, la cual es considerada un tipo de huella isotópica del alimento consumido (Torres-Rojas, 2011).

Se ha reportado que *M. henlei* se alimenta de pequeños invertebrados como poliquetos, crustáceos además de pequeños peces, presentando así una alta diversidad de especies presas consumidas (Compagno *et al* 1995). Bearhop *et al.* (2004) mencionan que el consumo de varias especies presas tiene como resultado una alta variación isotópica. Por otra parte, Abitia-Cardenas (1992) menciona que ciertos alimentos son destinados para el desarrollo de tejido constructivo y otros mas como tejido de reserva lo que les confiere diferente marca isotópica, por lo que los valores de nitrógeno (indispensable en la creación de aminoácidos) están muy relacionados al tipo de alimento que consumen las especies (Torres Rojas, 2011).

Por lo tanto, las diferencias en la variación isotópica en el presente estudio se pueden deber a cambios en el tipo de dieta (organismos bentónicos vs pelágicos; crustáceos vs peces), donde algunos serian destinados para la creación de tejido constructivo (presas ricas en proteínas) y otros como reserva (presas ricas en lípidos) (Abitia-Cardenas, 1992). Sin embargo, de la variación isotópica en el presente estudio, podría permitir observar dieta diferente con marcas isotópicas diferentes.

En dos especies de tiburones hay diferencias en el nivel trófico que cada uno presenta, ya que el mako presenta un nivel trófico mayor, y al tipo de hábitat en los que ambos se alimentan (Velasco, 2005; Compagno *et al* 1995). Al respecto, Velasco (2005) estudio los hábitos alimenticios de tiburón mako (*Isurus oxyrinchus*) a partir del uso de isotopos estables en muestras de tejido muscular el cual es capturado igual que *M. henlei* (en espacio y tiempo). *I. oxyrinchus* se caracterizo por presentar valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  parecidas a las de un depredador que se alimenta de presas pelágicas tanto en zonas costeras como oceánicas.

A partir de contenidos estomacales se ha observado que *I. oxyrinchus* se caracteriza por comer peces pelágicos mientras que en el caso de *M. henlei* consume presas bentónicas como poliquetos y otro tipo de crustáceos (Compagno *et al* 1995). A pesar de esto, las variaciones entre los valores promedio en tejido muscular de ambas especies en las marcas isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  son similares, sobre todo en  $\delta^{15}\text{N}$ , esto puede deberse posiblemente a la diversidad

de presas consumidas y el nivel trófico en conjunto. Ya que se ha observado que organismos que consumen varias especies presas de niveles tróficos bajos, suelen presentar valores isotópicos similares a organismos que consumen pocas especies presas pero de niveles tróficos altos (Vander-Zanden *et al.*, 2000).

Si bien no se descarta la influencia comprobada a nivel isotópico del tipo de alimento consumido, el paso que sigue es analizar la ruta que toman estos nutrientes dentro de un organismo así como las diferencias físicas y fisiológicas en su composición muscular, lo que llevaría a entender cómo cambian los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ .

### **Variación isotópica de acuerdo a la fisiología de la especie.**

Otras causas de la variabilidad en  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  que no están asociadas con las fuentes primarias, son aquellas que se producen dentro de cada organismo. Se considera que estas tienen un efecto significativo tan grande o incluso mayor que aquellos que se muestran entre los organismos (DeNiro & Epstein, 1978; Tieszen *et al.*, 1983; Stephenson *et al.*, 1984). Por otra parte, como se mencionó anteriormente, algunos trabajos han encontrado una mayor variación en algunos órganos especialmente en el hepático y páncreas, ya que está compuesto en gran parte de lípidos (Smith & Epstein, 1970).

Debido a que los lípidos están disminuidos en  $^{13}\text{C}$  relativo a otros tejidos del cuerpo, la concentración de estos puede afectar los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (Post *et al.*, 2007), reflejando valores más negativos (Smith & Epstein, 1970; Tieszen *et al.*, 1983). En el presente estudio solo se analizó tejido muscular, a pesar de esto se encontraron diferencias significativas entre paquetes musculares con relación al  $\delta^{13}\text{C}$ . En el caso del epiaxial el cual se encuentra localizado en la parte dorsal, tiene como característica de no presentar contacto directo con la cavidad ventral a diferencia del hipoaxial, esto podría ser una de las explicaciones de la diferencia isotópica. Esto debido a que al estar en contacto el paquete muscular con las víceras (hígado y el páncreas) a través de la cavidad celómica, podría presentar cierta influencia de estos órganos en sus valores isotópicos.

En el caso de los elasmobranquios, estos almacenan sus lípidos en el hígado para mantener una flotabilidad neutral (Ballantyne, 1997) y no en los paquetes musculares como algunos peces teleosteos, por lo que la variación encontrada pudiera deberse a la influencia de la alta concentración de lípidos almacenada en estos órganos. Sin embargo, como se menciono anteriormente, la presencia de lípidos ocasiona la obtención de valores más negativo de  $\delta^{13}\text{C}$  en este caso del paquete hipoaxial (como resultado de una interacción más directa con el hígado), lo cual no fue el caso, al contrario, los valores más negativos los presento el paquete muscular epiaxial por lo que una posible influencia de órganos como el hígado sobre el hipoaxial no fue evidente.

Además, al analizar la relación C:N, ambos paquetes musculares estuvieron por debajo del valor teórico de proteínas puras, lo que indica que estos tejidos estarían libres de lípidos o al menos por debajo del 5% de concentración los cuales se consideran bajo y de poca influencia sobre los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (Post *et al.*, 2007). Por tal motivo, resulta interesante analizar el motivo por el cual de esta diferencia entre paquetes del  $\delta^{13}\text{C}$ .

La diferencia entre paquetes en  $\delta^{13}\text{C}$  fue de 0.1‰, esta variación puede ser considerada como un cambio de nivel trófico (Vander-Zanden *et al.*, 2000) y si bien anteriormente se menciono que dos especies de tiburones como es *I. oxyrinchus* y el del presente estudio (*M. henlei*) presentaban valores similares a pesar de presentar dietas totalmente diferentes, esta comparación solo se hizo con base en musculo del paquete epaxial por lo que lo encontrado en el presente estudio resulta de gran relevancia, al comparar tejidos musculares con funciones diferentes se presentaron diferencias isotópicas y una de las principales causas es por la presencia de diferentes tipos de aminoácidos característicos de cada paquete muscular.

La anatomía muscular de los elasmobranquios ha sido objeto de disección en incontables estudios por todo el mundo (Liem & Summers 1999). Existen muchas descripciones de la musculatura de los elasmobranquios en la literatura que van desde exanimaciones detalladas de una región (e.g. Luther, 1909), estudios comparativos (e.g. Daniel, 1934) y descripciones exhaustivas de la musculatura entera dirigidas al estudio de la anatomía comparativa (e.g. Gilbert 1973; Walker & Homberger 1992).

Como en la mayoría de los peces el tronco y la musculatura de la cola es representado por un grupo axial de músculos somáticos que se extienden por delante y el cual se extiende por delante penetrando en la cabeza (Liem & Summers, 1999). Y se ha reportado que el músculo que se encarga principalmente de la locomoción del organismo es el epaxial (Bone 1999).

En el caso aminoácidos, si bien hay mucho que influyen en las actividades metabólicas, llama la atención el ciclo de la glucosa-alanina principal, donde se utiliza sobre todo como mecanismo del músculo esquelético para eliminar el nitrógeno al mismo tiempo que reabastece su suministro de energía. La oxidación de la glucosa produce piruvato que puede experimentar transaminación a alanina ( David et al, 2005; Mckee et al, 2004; Leal , 2001).

Esta reacción es catalizada por la alanina transaminasa, ALT (la ALT se llamaba glutamato piruvato transaminasa sérica, SGPT). Además, durante períodos de ayuno, la proteína del músculo esquelético es degradada por el valor de energía de los carbonos de los aminoácidos y la alanina es un aminoácido principal en la proteína. La alanina entonces entra en la corriente sanguínea y es transportada al hígado (David et al, 2005; Mckee et al, 2004; Leal, 2001).

Dentro del hígado, la alanina se convierte de nuevo a piruvato que es entonces una fuente de átomos de carbono para la gluconeogénesis. La glucosa recién formada puede entrar a la sangre para ser reintegrada de nuevo al músculo. El grupo amino transportado desde el músculo al hígado en forma de alanina es convertido a urea en el ciclo de la urea y es excretado ( David et al, 2005; Mckee et al, 2004; Leal, 2001).

Se podría mencionar que al ser el paquete epiaxial el principal encargado de la locomoción del organismo, es de esperarse que presente una mayor concentración de alanina para la obtención de energía, la cual ocasiona valores más negativos de  $\delta^{13}\text{C}$  como resultado de una mayor presencia de átomos de carbono ( $^{12}\text{C}$  ligeros), en comparación con el paquete Hipoaxial. Dicho lo anterior se podría mencionar que el principal motivo en las diferencias de  $\delta^{13}\text{C}$  entre paquetes musculares, podría estar relacionado a las cuestiones metabólicas diferentes entre paquetes, como resultado de un uso diferencial de aminoácidos.

Por otra parte, en el presente estudio se encontraron diferencias en  $\delta^{15}\text{N}$  de manera longitudinal en el paquete epiaxial, la forma en que los tejidos varían en términos de  $\delta^{15}\text{N}$  es de igual forma complejo de entender, sin embargo como ya se menciona esto puede estar en función de la abundancia relativa de diferentes aminoácidos en los tejidos (Gaebler *et al.*, 1966).

Se sabe que los aminoácidos esenciales muestran muy poco cambio desde la composición isotópica en la dieta, pero también se conoce que algunos aminoácidos que son totalmente sintetizados o parcialmente modificados dentro del organismo experimentan cambios en  $\delta^{15}\text{N}$  de gran magnitud. Por ejemplo, la abundancia del taurina (un aminoácido no esencial) en el corazón y en el músculo blanco de algunos peces causa un mayor enriquecimiento isotópico de  $\delta^{15}\text{N}$  (van Waarde, 1988; Pinnegar & Polunin, 1999). En contraste, el hígado contiene menos taurina y mas aminoácidos esenciales (Wilson y Poe, 1974) por lo que muestra un menor enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  como resultado del metabolismo (Román-Reyes 2003).

Estas observaciones son entre diferentes tejidos y órganos, al comparar a un mismo tejido entre organismos también se han encontrado diferencias, ejemplo de esto son algunos peces escómbridos de carne roja, los cuales presentan una gran abundancia en aminoácidos, especialmente en histidina libre (Shiau *et al.*, 1997), por lo que algunos autores sugieren que pudiera haber un enriquecimiento en los valores obtenidos en relación al  $^{15}\text{N}$ , con relación a otras especies (Gaebler et al. 1966).

En el caso específico de los elasmobranquios hay una gran abundancia de aminoácidos (carnosina, anserina e histidina) por lo que existe un enriquecimiento considerable de Nitrógeno, lo que influye en los valores relacionados al  $^{15}\text{N}$  en el tejido muscular blanco de peces con respecto a otros tejidos musculares (Román-Reyes 2003). Lo anterior mencionado podría ser uno de los motivos de las diferencias isotópicas dentro de un organismo. Sin embargo, estas diferencias serian de esperarse entre tejidos como ya se menciona, el cual no fue el caso, ya que estas diferencias se dieron dentro de un mismo tejido y aun mas específico dentro de un mismo paquete muscular.

Al comparar los valores obtenidos a nivel longitudinal del paquete muscular epaxial, del organismo muestreado, uno esperaría no encontrar variaciones significativas, ya que este tipo de tejidos musculares presentan la misma tasa metabólica y de recambio, además de presentar aminoácidos similares a lo largo del paquete muscular, por lo que sus valores isotópicos no deberían variar tanto, y como se pudo observar esto no fue así.

Esta variación significativa en el paquete muscular epaxial podría estar relacionada a posibles diferencias fisiológicas dentro del paquete muscular, las cuales de manera indirecta van a determinar sus valores isotópicos en función del tipo de aminoácido que presentan. Esto es posible ya que la composición del paquete epaxial está distribuido en diferentes proporciones en forma longitudinal de diferentes tipos de fibras musculares (fibras rojas y fibras blancas, principalmente)(Bone 1999).

Las variaciones detectadas principalmente en los cortes cercanos a la cabeza en contraste con la zona caudal pueden deberse a que las fibras musculares blancas son más frecuente en la zona de la cabeza (Bone, 1999) por lo que es atribuible que la variación encontrada en el  $\delta^{15}\text{N}$  se deba a las posibles variaciones fisiológicas, lo que ocasiona una diferencia en la composición de aminoácidos (Macneil, 2005), por lo que se debe analizar más detalladamente la composición de los tejidos musculares de los elasmobranquios y como están dispuestos.

La mayoría de los paquetes longitudinales laterales de fibras musculares tanto dorsal y ventralmente hasta el septo esquelético horizontal, son fibras rojas con metabolismo aerobio.

Esas fibras son usadas por el pez cruzando a velocidades normales (Liem & Summers, 1999). También se ha reportado que existe una división obvia en el miotomal y otros músculos, entre esas regiones se encuentran zonas blancas o amarillentas y otras regiones conspicuas más pequeñas que son de color roja (Bone 1999).

Estas regiones coloreadas de modo diferente de la musculatura, las cuales reflejan notables diferencias en las fibras musculares que las componen, tal como sucede en otros grupos de peces, donde se presentan diferencias similares de coloración (Bone 1999). La diferencia de

color se debe no solo a la gran vascularidad de los músculos rojos, sino que también son mucho más altos en contenido de mioglobina comparado con los músculos blancos (Kryvi *et al.*, 1981).

En la mayoría de los tiburones, la musculatura miotomal locomotora consiste en una capa exterior de fibras rojas, la cual cubre una masa mucho más grande de fibras blancas o amarillas pálidas (Bone 1999). Por lo que la proporción de las fibras rojas varía a lo largo de la longitud del tiburón. Un ejemplo es el tiburón *Scyliorhinus canicula*, el cual presenta una variación que va de menos de un 5% al 20% en la región caudal. En cambios, los peces más activos tienen relativamente una proporción mayor de fibras rojas en la región caudal, por ejemplo se ha registrado un 22% en *Prionace glauca* mientras que en organismos más activos (isuridos) la masa muscular roja está envuelta dentro del miotomo tal como sucede en atunes.

Se sabe que los tipos de fibras musculares varían en su concentración por ejemplo en el miotomo postanal hay solamente 80-90 fibras superficiales comparadas con las alrededor de 8000 fibras rojas y 11000 fibras blancas. También se diferencian en tamaño ya que estas fibras son muchas más grandes en diámetro que las fibras rojas ya que solo representan 0.6% de la sección transversal comparado con el 24.4% para las fibras rojas y el 75% para fibras blancas (Bone. 1999).

Al observar microscópicamente estas fibras musculares se observa que aumentan su complejidad. Si observamos detenidamente ciertas áreas como el lado más grueso de la línea lateral y la vena lateral la cual se va adelgazando dorsal y ventralmente, existe una graduación a través de la zona de fibras rojas, donde fácilmente se distinguen la división entre las fibras rojas exteriores e interiores la cuales son adyacentes a la zona exterior de fibras blancas, sin embargo no se tiene claro si sus diferencias se deben a que tenga diferentes roles funcionales como lo presenta entre las fibras rojas que se encuentran entre las fibras blancas superficiales y las blancas (Bone, 1999), además que a nivel isotópico no se detectaron diferencias significativas a diferentes profundidades, por lo que la variación isotópica estaría más relacionado a cambios en las proporciones de fibras blancas y rojas a lo largo del cuerpo.

En contraste las fibras blancas cercanas a las fibras rojas interiores son diferentes de la mayoría de la masa contenida en el miotomo, ya que contienen ligeramente más mitocondrias y están rodeadas por un poco más de capilares que las fibras blancas interiores (Bone 1999). Por lo tanto existen fibras blancas interiores y exteriores en el miotomo por lo que se puede decir que existen cinco tipos diferentes de fibras las cuales pueden ser fácilmente distinguibles basándose en el contenido de lípidos y SDH, también son diferentes en color, contenido de glicógeno, patrones de inervación, cama vascular, además de propiedades mecánicas, mitocondriales, contenido de mioglobina, perfil de enzimas y en su electrofisiología (Dickson *et al.*, 1993).

En el presente estudio, si bien no se cuenta con estudios fisiológicos sobre la especie, lo que si podemos ver es una tendencia en todos los tiburones a presentar un mayor número de fibras rojas y menor número de fibras blancas conforme se desplaza de la parte anterior a la posterior, lo cual podría ser el principal motivo en la variación isotópica del  $\delta^{15}\text{N}$  (Bone 1999; Gaebler *et al.*, 1966; Shiao *et al.*, 1997). Ya que como ha sido reportado existe un enriquecimiento considerable de Nitrógeno, lo que influye en los valores relacionados al  $^{15}\text{N}$  en el tejido muscular blanco de peces con respecto a otros tejidos musculares (Román-Reyes, 2003), lo cual fue lo que se observó en el presente estudio donde los cortes de la parte cercana a la cabeza al momento de presentar un mayor número de fibras blancas tuvo como resultado valores más altos de  $\delta^{15}\text{N}$ .

A diferencia de los peces óseos, los elasmobranquios mantiene el balance osmótico mediante la retención de urea  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ . Este es un desecho metabólico contiene carbón del bicarbonato dentro de la mitocondria y nitrógeno suministrado por la trasaminación y desaminación de los aminoácidos (Kim & Koch 2011).

Un enriquecimiento en  $^{13}\text{C}$  se puede esperar como  $\text{CO}_2$  de la respiración el cual en  $\delta^{13}\text{C}$  es similar en los valores del carbón de la dieta (Passey *et al.*, 2005). El enriquecimiento del  $^{13}\text{C}$  ocurre durante la hidratación de  $\text{CO}_2$  para formar  $\text{HCO}_3^{-2}$  (Mook *et al.*, 1974) precursor de la síntesis de la urea. (Kim & Koch, 2011). Si bien en el presente trabajo no se detectaron

diferencias significativas entre cortes en el  $\delta^{13}\text{C}$  si se observa cierta tendencia a ser diferentes los valores por lo que se estaría reflejando el fenómeno antes descrito.

En el caso del  $\delta^{15}\text{N}$ , existe una concentración preferencial de  $^{14}\text{N}$  en urea por la triaminasa y deaminasa, seguidas por la excreción en la orina esto ha causado la fraccionación tejido-dieta en algunos trabajos realizados (Gannes *et al.*, 1998). Para contrarrestar desestabilización de la proteína causada por la gran concentración de urea, los elasmobranquios deben también de sintetizar o ingerir Trimetelamina N- oxidasa (TMAO)  $\text{C}_3\text{H}_9\text{NO}$  (Ballantyne, 1997) el cual probablemente presenta una composición isotópica diferente que la proteína. Además, se ha observado que las concentraciones de urea y TMAO varían dependiendo de la salinidad del ambiente (Ballantyne 1997).

Algunos autores indican que la urea afecta los valores isotópicos (Kim & Koch 2011). La concentración de urea y TMAO en tejido de elasmobranquios puede influenciar la mayoría de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  sesgando potencialmente las interpretaciones ecológicas (Kim & Koch 2011).

De tal forma, se puede mencionar que una mayor distribución de fibras rojas en la aleta caudal pudo ser lo que ocasiono un empobrecimiento de  $\delta^{15}\text{N}$  en comparación con los de la cabeza, esto debido a que las fibras rojas en la aleta caudal serian las principales encargadas de la locomoción del organismo por lo que los requerimientos de aminoácidos (carnosina, anserina e histidina) serian mayores generando una mayor cantidad de desechos nitrogenados como la urea, la cual se caracteriza por estar enriquecida en  $^{14}\text{N}$  lo que ocasiona valores bajo de  $\delta^{15}\text{N}$ .

Además otra prueba es el enriquecimiento de  $\delta^{13}\text{C}$  en los paquetes 1d, 2d, 3d, como resultado de la hidratación de  $\text{CO}_2$  para formar  $\text{HCO}_3^{-2}$  (Mook *et al.*, 1974) precursor de la síntesis de la urea. (Kim & Koch, 2011). Todo esto derivaría en cambios en los valores isotópicos y queda claro que la parte dorsal estaría más libre de urea o cualquier otros desecho que la parte caudal por lo resulta conveniente que las muestras provengan de esta zona para el análisis isotópico, ya que estas serian reflejo del comportamiento del organismo y no estarían influenciadas por

sustancias generadas por el metabolismo del organismo. Por lo que es necesario considerar la parte de donde se toma el músculo.

En el presente estudio se pone en evidencia la variación isotópica dentro de un organismo, en específico de los elasmobranchios, donde el panorama general podría dar la impresión que la interpretación de los datos para estudiar la ecología de los animales por medio de los isótopos estables parece ser compleja. Sin embargo, esta supuesta complejidad va en funciones de la falta de medidas precautorias antes de realizar el estudio y la utilidad de la técnica radica en la correcta aplicación, además que todos los resultados tienen una interpretación científica.

Lo anterior hace a esta técnica atractiva por lo que lejos de verse como limitantes, se debería de ver como ventajas, ya que a partir de una sola técnica se puede estudiar numerosos factores, donde de manera general, la variación en la composición isotópica de algunos organismos acuáticos a nivel específico, parecen ser inherentes debido a los procesos físicos, químicos y biológicos que son impuestos por el ambiente y la propia fisiología de los organismos (Gannes *et al.*, 1997).

Esto hace que la técnica sea atractiva para que se sigan estudiando aspectos como análisis trófico y la reconstrucción de la dieta en un gran número de ecosistemas, así como impactos en ecosistemas ocasionadas de manera antropogénica (Hobson & Welch, 1995; Vander Zanden *et al.*, 1998), claro está que considerando siempre los supuestos básicos y buscando casi siempre una verificación experimental (Torres Rojas, 2011).

En el presente estudio quedo en claro que la mejor explicación de la variación se debió a la diferencia fisiológica y presencia de diferentes tipos de aminoácidos, donde la diferencia entre paquetes musculares podría estar reflejando el uso de diferentes aminoácidos, lo que serviría para conocer las vías que siguen diferentes nutrientes al momentos de ser consumidos. Claro está que faltaría la comprobación mediante la realización de un estudio de abundancia de aminoácidos en tiburones.

Mientras que la variación a nivel longitudinal estaría explicada por la posible mayor producción de urea en la parte caudal, donde el paso a seguir sería la comprobación de esto, en qué cantidades se encuentra.

Todo esto ayudaría a entender el comportamiento físico de un organismo, lo cual de alguna forma indirecta ayudaría para conocer el comportamiento de la especie al momento de interactuar en una comunidad, logrando conocer así su rol funcional dentro de su ecosistema.

### 13. CONCLUSIONES

- No se encontró variación significativa en los valores de la relación C/N en el tejido muscular, lo que indica poca concentración de lípidos y un equilibrio con la proteína que lo compone.
- No se detecto diferencias en la variación de  $\delta^{13}\text{C}$  a nivel longitudinal del musculo epiaxial, pero si se detecto variación significativa en el  $\delta^{15}\text{N}$ , esto debido a posibles variaciones en la composición fisiológica y bioquímica de este paquete muscular, las cuales están relacionadas al tipo de fibra muscular y aminoácidos presentes.
- No se detecto variación significativa tanto en el  $\delta^{15}\text{N}$  como en el  $\delta^{13}\text{C}$  a nivel longitudinal en el paquete muscular hipoaxial, esto relacionado con la presencia de un mismo tipo de aminoácidos en la zona ventral.
- No se encontraron variaciones significativas en el  $\delta^{15}\text{N}$  y el  $\delta^{13}\text{C}$  a nivel profundidad tanto en el paquete muscular epiaxial y paquete hipopaxial. Posiblemente relacionado a una misma composición de fibras musculares a este nivel.
- Se detecto variación entre los valores isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  del paquete epaxial y del paquete hipopaxial, lo cual podría estar relacionado con la función de cada paquete muscular en el organismo, lo que da como resultado un mayor uso de energía.

## 14. RECOMENDACIONES

- Dado que la fisiología de estas especies de elasmobranquios pueden variar a nivel género, se recomienda que se realicen estudios relacionados con la variación isotópica entre especies a nivel microscópico para conocer las causas que ocasionan dichas variaciones.
- Previo a realizar alguna extracción de lípidos o urea, se recomienda que se entienda la composición anatómica del organismo y sus cambios ontogénicos, lo que ayudara a entender como es la variación isotópica.
- Estudiar más la composición isotópica de los diferentes paquetes musculares y hacer una comparación entre fibras rojas y blancas para conocer su variación isotópica de manera específica.
- Realizar estudios isotópicos a nivel aminoácidos para entender las vías que toman los nutrientes una vez ingeridos y como esto ayudaría a conocer cuestiones tróficas de la especies en el medio marino.
- Realizar estudios isotópicos a nivel de especie, para observar la variación en tiempo y espacio diferentes y realizar estudios entre organismos de diferentes sexos, para conocer su posible variación con respecto a diferentes desarrollos metabólicos.

## 15. BIBLIOGRAFÍA

- Abitia-Cárdenas, L.A. 1992. Espectro trófico energético del marlín Rayado *Tetrapturus audax* (Philippi, 1887) y marlín azul *Makaira mazara* (Jordan y Snyder, 1901), del área de Cabo San Lucas, B.C.S México. Tesis de maestría, CICIMAR-IPN, México 76pp.
- Adam, T.S; & Sterner, R.W 2000. The effect of dietary nitrogen content on trophic level 15n enrichment, *Limnology and Oceanography*, vol. 45, no. 3, 601-607 pp
- Aguilar-Castro, N.A. 2003. Ecología trófica del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) en el Golfo de California. Tesis de Maestría. CICIMAR. 111 pp.
- Álvarez-Arellano, A. 1987. Aspectos oceanográficos del Golfo de California. Serie Didáctica. A.4. UABCS. 37 pp.
- Aurioles-Gamboa D., Newsome S. D., Salazar Pico S., Koch P. L., 2009. Stable isotope differences between sea lions (*Zalophus*) from the Gulf of California and Galapagos islands *Journal of Mammalogy*, 90:1410–1420.
- Ballantyne JS .1997. Jaws: The inside story. The metabolism of elasmobranch fishes. *Comp Biochem Physiol, Part B Biochem Mol Bio* 118:703–742.
- Bearhop S, Adams C.E., Waldron S., Fuller R. A., Macleod H., 2004 Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology* 73:1007-1012
- Best P. B. y Schell D. M., 1996. Stable isotopes in southern right whale (*Eubalaena australis*) baleen as indicators of seasonal movements, feeding and growth. *Marine Biology* 124, 483-494.

Bone Quentin. 1999. Chapter 5 : Muscular System: microscopical anatomy, physiology, and biochemistry of elasmobranch muscle fibers. Sharks Skates and Rays the biology of elasmobranch fishes. The Johns Hopkins University Press. 115-143 pp.

Bonfil, R.S., D. De Anda, F., y R. Mena, A. 1990. Shark fisheries in México: The case of Yucatán as an example. *In*: Pratt H.L., S.H. Gruber y T. Taniuchi (eds). 1990. Elasmobranch as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries. NOAA Technical Report NMFS. 90:518 p.

Boutton T. W., 1991. Stable carbon isotope ratios of natural materials: II. Atmospheric, terrestrial, marine and freshwater environments. *In*: Carbon isotope techniques 173-185. D. C. Coleman and B. Fry (eds). Academic Press, San Diego, California. U.S.A.

Brugnoli E. & Farquhar G.D. 2000. Photosynthetic fractionation of carbon isotopes. *in*: Leegood R.C, Sharkey T.D and Von Caemmerer S (eds.) photosynthesis: physiology and metabolism. Advances in photosynthesis, Kluwer academic publishers, the Netherlands, pp. 399-434.

Burton, R. y P. Koch. 1999. Isotopic tracking of foraging and long-distance migration in northeastern Pacific pinnipeds. *Oecologia*. 119: 578-585.

Caillict, G.M., M.S. Love y A.W.Ebeling.1996. Fishes, A field and laboratory manual on their structure, identification, and natural history. Waveland Press.EUA.194p. *Can. Jou. Fish. and Aqua. Scie.* 40 : 175-177

Camalich-Carpizo, J, M. 2009. Influencia de los procesos de nitrificación y desnitrificación en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  en las redes tróficas del pacifico nororiental. Ensayo predoctoral. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. 54p

Carrier J.C., J.A. Musick, y M.R. Heithaus. 2004. Biology of sharks and their relatives. CRC Press. E.U.A. 596 pp

Castillo Geniz J.L. 1992 Diagnostico de la pesqueria de Tiburón en México “Documento del programa Tiburón”.Secretaria de Pesca. México. 10-72pp.

Castro, J. I Woodley y R. Brudeck 1999. A peliminary evaluation of the status of shark species. FAO Fisheries Technical paper. 380 pp.

Chamberlain, C.P., J.D. Blum., R.T. Holmes., Xiahong Feng., T.W. Sherry y G.R. Graves 1997. Use of isotope tracers for identifying populations of migratory birds. *Oecologia*. 109: 132–141 pp.

Checkley Jr. D. M. y Miller C. A., 1989. Nitrogen isotope fractionation by oceanic zooplankton. *Deep-Sea Research* 36, 1449-1456.

Colaboradores de Wikipedia. Epaxial and hypaxial muscles [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2012 [fecha de consulta : 26 de Marzo del 2012]. Disponible en: <[http://en.wikipedia.org/wiki/Epaxial\\_and\\_hypaxial\\_muscles](http://en.wikipedia.org/wiki/Epaxial_and_hypaxial_muscles)>.

Colaboradores de Wikipedia. Isótopo estable [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2006 [fecha de consulta: 21 de marzo del 2006]. Disponible en: <[http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Is%C3%B3topo\\_estable&oldid=2636729](http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Is%C3%B3topo_estable&oldid=2636729)>.

Colaboradores de Wikipedia. Metabolismo [en línea].Wikipedia La enciclopedia libre, 2012 [fecha de consulta 28 de enero del 2012]. Disponible en: <<http://es.wikipedia.org/wiki/Metabolismo>>.

Colaboradores de Wikipedia. Migración [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2012 [fecha de consulta: 2 de Febrero del 2012]. Disponible en: <<http://es.wikipedia.org/wiki/Migraci%C3%B3n>>.

Colaboradores de Wikipedia. Ontogenia [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2012 [fecha de consulta: 2 de Febrero del 2012]. Disponible en: <<http://es.wikipedia.org/wiki/Ontogenia>>.

Compagno, L.J.V., F. Krupp y W. Schneider.1995.Tiburones *In*: Fischer W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter y V.H. Niem, (eds). 1995. *Pacífico* Centro-Oriental; Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca. FAO; Roma. (Vol- II) 700-737 pp.

Craig R. E. 1957 A note on the dependence of catches on the temperature and wind on the Buchan Pre-Spawning herring fishery. Marine Laboratory of Aberdeen 25.2.185

Creach, V., M.T. Schricke, G. Bertru y A. Mariotti.1997. Stable isotopes and gut analyses to determine feeding relationships in saltmarsh macroconsumers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 44:599-611.

Dawson T. E. y Brooks P. D., 2001. Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement. In: *Stable isotope techniques in the study of biological processes and functioning of ecosystems*. 1-18. M. Unkovich, J. Pate, A. McNeill y D. J. Gibss (eds.). Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

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

DeNiro M. J. y Epstein S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 341-353.

Diaz-Gamboa, R.E. 2003. Diferencia entre Tursiones *Tursiops truncatus* costeros y oceánicos en el Golfo de California por medio de isótopos estables de carbono y nitrógeno. Tesis de Maestría. CICIMAR. 62 pp.

- Dickson, K. A., M. O. Gregorio, S. J. Gruber, K. L. Loeffler, M.C. Tran, and C. Terrel. 1993. Biochemical indices of aerobic and anaerobic capacity in muscle tissue of California elasmobranch fishes differing in typical activity level. *Mar. Biol.* 117: 185-93.
- Dugdale R. C. y Goering J. J., 1967. Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. *Limnology and Oceanography* 12, 196-206.
- Estrada, J. A., Rice A. N., Lutcavage M.E. y Skomal G.B. 2003. Predicting trophic position in sharks of the north-west Atlantic Ocean using stable isotope analysis. *Jor. Mar. Biol. Assoc. of United Kingdom.* 1347-1350 pp.
- F. Lozano Cabo. 1970. Oceanografía, biología marina y pesca volumen 1. *Parainfo.* 240-242 pp.
- F. Lozano Cabo. 1970. Oceanografía, biología y pesca volumen 2. *Parainfo.* 143-147 pp.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R., Hubick K.T. 1989a. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40: 503-537
- Folch J, Lees M, Stanley GHS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol Chem* 226:497-509
- Franks, P.J.S. 1992. Phytoplankton blooms at fronts: patterns, scales and physical forcing mechanisms. *Rev. Aqua. Sci.* 6(2): 121-137.
- Gaebler O. H., Vitti T. G., y Vukmirovich R., 1966. Isotope effects in metabolism of  $^{14}\text{N}$  y  $^{15}\text{N}$  from unlabeled dietary proteins. *Canadian Journal of biochemistry* 44, 1249-1257.
- Gannes L. Z., O'brien D. M. y Del Rio C. M., 1997. Stable isotopes in animal ecology: assumption, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology* 78, 1271-1276.

Gannes LZ, Martínez del Río C, Koch P .1998. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. *Comp Biochem Physiol, Part A Mol Integr Physiol* 119:725–737

Gearing, J.N. 1991. The study of diet and trophic relationships through natural abundant  $^{13}\text{C}$ . P. 201-218. *En: D. Coleman y B. Fry (Eds.). Carbon Isotope Techniques. Academic Press. USA. 274 pp.*

Gerking, S. D. 1994. Feeding ecology of fish. Academic Press. E. U. A. 416 pp.

Grisley M. S. y Boyle P. R., 1985. A new application of serological techniques to gut content analysis. *Journal Experimental of Marine Biology and Ecology* 90, 1-9.

Goericke, R & B. Fry (1994) Variations of marine plankton  $\delta^{13}\text{C}$  with latitude, temperature, and dissolved  $\text{CO}_2$  in the world ocean. *Global Biogeochem Cycles*. 8: 85–90 pp.

Goering J., Alexander V. y Haubenstock N., 1990. Seasonal variability of stable carbon and nitrogen isotope ratios of organisms in a north Pacific bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 30, 239-260.

Hacohen-Domené, A., Galván-Magaña, F. y Ketchum-Mejía, J. 2006. Abundance of whale shark (*Rhincodon typus*) preferred prey species in the southern Gulf of California, México. *Cybiuim*. 30(4): 99-102.

Hansson, S., J.E. Hobbie, R. Elmgren, U. Larsson, B. Fry & S. Johansson. 1997. The stable nitrogen isotope ratio as a marker of food-web interactions and fish migration. *Ecology*. 78: 2249–2257pp.

Harvey , C.J. y J.F. Kitchel. 2000. A stable isotope evaluation of structure and spatial heterogeneity of a lake superior food web. *Can. J. fish and Aqua. Sci.* 57: 1395 – 1403.

Herzka, S.Z., Departamento de Ecología CICESE. Ecología de isótopos estables. Recuperado 6, Octubre (2003) *En*: <http://ecologia.cicese.mx/~sherzka/>

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

Hobson K. A. y Welch H. E., 1995. Cannibalism and trophic structure in a high arctic lake: insights from stable isotope analysis. *Canadian Journal of fisheries and Aquatic Science* 52, 1195-1201.

Hobson K. A., Schell D. M., Renouf D. y Noseworthy E. 1996. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstruction involving marine mammals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 53, 528-533.

Hobson K. A. y Wassenaar L. I., 1997. Linking breeding and wintering grounds of neotropical migrant songbirds using stable hydrogen isotopic analysis of feathers. *Oecologia* 109, 142-148.

Hoekstra, P., L. Dehn, J. George, K. Solomon, D. Muir y T. O'Hara. 2002. Trophic ecology of bowhead whales (*Balaena mysticetus*) compared with that of other arctic marine biota as interpreted from carbon-, nitrogen-, and sulfur-isotope signatures. *Canadian Journal of Zoology*. 80: 223-231.

Hoering T. C. y Ford H. T., 1960. Isotopic effect in the fixation of nitrogen by *Azotobacter*. *Journal of the American Chemical Society* 82, 376-378.

Holden. M.J. 1974. Problems in the rational exploitation of elasmobranch populations and some suggested solutions. *In*: Sea fisheries research. F.R.H. Jones, (ed.) New York, Wiley and Sons. pp. 117-137.

Hooker, S., S. Iverson, P. Ostrom y S. Smith. 2001. Diet of northern bottlenose whales inferred from fatty-acid and stable-isotope analyses of biopsy samples. *Canadian Journal of Zoology*. 79: 1442-1454.

Jaume-Schinkel, M.S. 2004. Hábitos alimentarios del rorcual común *Balaenoptera physalus* en el Golfo de California mediante el uso de isótopos de nitrógeno y carbono. Tesis de Maestría. CICIMAR. 78 pp.

John Daintith, y Elizabeth Tootill 2001. Diccionario especializado de biología Grupo editorial Norma educativa. 80-270 pp.

Kelly B, Dempson JB, Power M. 2006. The effects of preservation on fish tissue stable isotope signatures. *J Fish Biol* 69:1595–1611

Kim S. L. & Koch Paul L. 2011. Methods to collect, preserve, and prepare elasmobranch tissues for stable isotope analysis. *Environ Biol Fish* DOI 10.1007/s10641-011-9860-9

Kling G. W., Fry B. y Brien W. J., 1992. Stable isotopes and plankton trophic structure in arctic lakes. *Ecology* 73, 561-566.

Kryvi, H., T. Flatmark, and G.K. Totland. 1981. The myoglobin content in red, intermediate, and white fibers of the swimming muscles in three species of sharks, a comparative study using high-performance liquid chromatography. *J. Fish Biol.* 18: 331-38.

Laurence M. Ashley, Robert B. Chiasson 1988 *Laboratory of anatomy of shark* McGraw-Hill Science/Engineering/Math; pag 94-122

Lesage, V., M. Hammill y K. Kovacs. 2002. Diet-tissue fractionation of stable carbon and nitrogen isotopes in phocid seals. *Marine Mammal Science*. 18: 182-193.

Liem K.F. y Summers Addam P. 1999. Chapter 4 : Muscular system :Gross anatomy and functional morphology of muscles. The Johns Hopkins University Press. 93-114 pp.

Logan John M. y Molly E. Lutcavage. 2010. Stable isotope dynamics in elasmobranch fishes *Hydrobiologia* 644:231–244.

Lux, F. E. 1971. Age determination of fishes (Revised). U. S. Fish. Wild. Serv., Fish Leaflet 488.1-7pp.

MacNeil, M.A., G.B. Skomal y A.T. Fisk. 2005. Stable isotopes from multiple tissues reveal diet switching in sharks. *Marine Ecology Progress Series* 302: 199–206 pp.

Mako S. A., Lee W. Y. y Parker P. L., 1982. Nitrogen and carbon isotope fractionation by two species of marine amphipods: laboratory and field studies. *Journal Experimental of Marine Biology and Ecology* 63, 145-149.

McConnaughey, T.A. & C.P. McRoy. 1979. Food-web structure and fractionation of carbon isotopes in the Bering Sea. *Marine Biology*. 53:257–262 pp.

Minami H. y Ogi H., 1997. Determination of migratory dynamics of the sooty shearwater in the Pacific using stable carbon and nitrogen isotope analysis. *Marine Ecology Progress series* 158, 249-256.

Minagawa M. y Wada E., 1984. Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, 1135-1140.

Miyake Y. y Wada E., 1971. The isotope effect of nitrogen in biochemical oxidation-reduction reactions. *Records of Oceanographic Works, Japan* 7, 37-53.

Mook WG, Bommerson JC, Staverman WH .1974. Carbon isotope fractionation between dissolved bicarbonate and gaseous carbon dioxide. *Earth Planet Sci Lett* 22:169–176

Nelson David L. 2005. "Lehninger - Principios de Bioquímica". Editorial Omega. ISBN: 9788428214100

Overman N. C. y Parrish D. L., 2001. Stable isotope composition of walleye:  $^{15}\text{N}$  accumulation with age and area-specific differences in  $\delta^{15}\text{C}$ . Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 58, 1253-1260.

Pacheco Leal, 2001 "Bioquímica estructural y aplicada a la medicina". Editorial : Instituto Politécnico Nacional. ISBN: 968-29-8781-4

Paré, J.R., M.R Bélanger y S.S. Stafford. 1994. Microwave-Assisted Process (MAPTM): a new tool for the analytical laboratory. Trends in analytical chemistry. 13:176-184 pp.

Passey BH, Robinson TF, Ayliffe LK, Cerling TE, Sponheimer M, Dearing MD, Roeder BI., Ehleringer JR, 2005. Carbon isotope fractionation between diet, breath  $\text{CO}_2$ , and bioapatite in different mammals. J Archaeol Sci 32:1459–1470

Peterson B. J. y Fry B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. Annual Review of Ecology systematic 18, 293-320.

Peterson, A. W. y A. K., Whitfield. 1997. A stable carbon isotope study of the food-web in a freshwater-deprived south African estuary, with particular emphasis on the ichthyofauna. Estuarine, Coastal and shelf Science. 45:705-715.

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

Post D. M., Layman C. A., Takimoto G., Quattrochi J., Montaña C. G. 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. Oecologia 152, 179-189.

Rau G. H., Sweeney R. E. y Kaplan I. R., 1982. Plankton  $^{13}\text{C}:$  $^{12}\text{C}$  ratio changes with latitude: differences between northern and southern oceans. *Deep-Sea Research* 29, 1035-1039.

Rau, G. H., A.J., Mearns, D.R., Young, R.J. Olson, H.A. Schafer y I.R. Kaplan. 1983. Animal  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  correlates with trophic level in pelagic food webs. *Ecology* 64(5):1314-1318.

Rau, G.H., J.L. Tetssie, F, Rassoulzadegan & S.W. Fowler. 1990.  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  variations among size fractionated marine particles: implications for their origin and trophic relationship. *Marine Ecology Progress Series* 59: 33-38 pp.

Rau, G., D. Ainley, J. Bengtson, J. Torres y T. Hopkins. 1992.  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  in weddell seabirds, seals and fish: implications for diet and trophic structure. *Marine Ecology Progress Series*. 84: 1-8.

Renoe, B. 1995. Microwave-assisted extraction for environmental analyses. *American Environmental Laboratory*. 7(5): 26-27.

Romeu, E 2001. <http://www.conabio.gob.mx/biodiversitas/tiburon.htm>

Román-Reyes, J. C. 2003. Información ecológica a partir de isótopos estables de carbono y nitrógeno en las cadenas tróficas. Predoctoral. CICIMAR. 55 pp.

Román-Reyes, J.C. 2005. Análisis del contenido estomacal y la razón de isótopos estables de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*), delfín manchado (*Stenella attenuata*) y delfín tornillo (*Stenella longirostris*) del Océano Pacífico oriental. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 143 pp.

Saino, R. & A. Hattori. 1987. Geographical variation of the water column distribution

of suspended particulate organic nitrogen and its  $^{15}\text{N}$  natural abundance in the Pacific and its marginal seas. *Deep Sea Res.* 34: 807-827 pp.

Sampson L, Galván-Magaña 2007. Dieta, Posición trófica y variación en la señal isotópica de *Mobula thurstoni* Y *Mobula japonica* en el suroeste del Golfo de California. *Tesis Maestría. CICIMAR.* 8-12 pp.

Schell D. M., Saupe S. M. y Haubenstock N., 1989. Bowhead whale (*Balaena mysticetus*) growth and feeding as estimated by  $\delta^{13}\text{C}$  techniques. *Marine Biology* 103, 433-443.

Schell, D.M., B.A. Barnett y K.A. Vinette. 1998. Carbon and nitrogen isotope ratios in zooplankton of the Bering, Chukchi and Beaufort Seas. *Marine Ecology Progress Series.* 162: 11-23 pp.

Schmidt-Nielsen K., 1983. *Animal physiology: Adaptation and environment.* 3<sup>rd</sup> Ed., 619 pp. Cambridge University Press: Cambridge.

Schmidt O., Scrimgeour C. M. y Curry J. P. 1999. Carbon y nitrogen stable isotope ratios in body tissue and mucus of feeding earthworms (*Lumbricus festivus*). *Oecologia* 118, 9-15

Schmitter-Soto, 1992. Aspectos autoecológicos de los triglíridae (Pisces Scorpeoniformes) en la costa occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría de Ciencias. CICIMAR (IPN). 102 pp.

Shiau C. Y., Pong Y. J., Chiou T. K. y Chai T. J., 1997. Effect of growth on the levels of free histidine and amino acids in muscle of milkfish (*Chanos chanos*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 2103-2106.

Smith B. N. y Epstein S., 1970. Biogeochemistry of stable isotopes of hydrogen and carbon in salt marsh biota. *Plant Physiology* 46, 738-742.

Smit, A. 2001. Source identification in marine ecosystems. P. 219-245. *In*: M. Unkovich., J.Pate, A. McNeill y D. Gibbs (Eds.). *Stable isotope techniques in the study of biological processes and functioning of ecosystems*. Kluwer Academic Publishers. Holanda. 289 pp.

Stephenson R. L., Tan F. C. y Mann K. H. 1984. Stable carbon isotope variability in marine macrophytes and its implications for food web studies. *Marine Biology* 81, 223-230.

Sweeting CJ, Polunin NVC, Jennings S. 2006. Effects of chemical lipid extraction and arithmetic lipid correction on stable isotope ratios of fish tissues. *Rapid Commun Mass Spectrom* 20:595–601.

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

Todd, S., P. Ostrom, J. Lien y J. Abrajano. 1997. Use of biopsy samples of humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) skin for stable isotope  $\delta^{13}\text{C}$  determination. *Journal Northwest Atlantic Fishery Science*. 22: 71-76.

Torres-Orozco. E. 1993. Análisis volumétrico de la masa de agua del Golfo de California. Tesis de Maestría. CICESE. México. 75 pp.

Torres Rojas Y. E. 2006. “Hábitos alimenticios y la razón de isótopos estables de Carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y Nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) del tiburón *Sphyrna lewini*, (Griffith y Smith 1834) capturado en el área de Mazatlán, Sinaloa, México. Tesis Maestría. CICIMAR. 59 pags.

Torres-Rojas Y.E. 2011. “ Nicho trófico de pelágicos mayores capturados en la boca del golfo de california.” Tesis Doctorado. CICIMAR. 1-139.

Trudy Mckee et al, 2004 "Biochemistry: The Molecular Basis of Life". Editorial McGraw-Hil. ISBN: 0195305752

Van Waarde A. 1988. Biochemistry of non-protein nitrogenous compounds in fish, including the use of amino acids for anaerobic energy production. *Comparative Biochemistry and Physiology* 91B, 207-228.

Vander Zanden, M. J., B. J. Shuter, N. P. Lester y J. B. Rasmussen. 2000. Within and among population variation in the trophic position of the aquatic top predator, lake trout. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 57: 725–731.

Vander Zanden M. J., Hulshof M., Ridgway M. S., y Rasmussen J. B., 1998. Application of stable isotope techniques to trophic studies of age-0 smallmouth bass. *Transaction of American Fisheries Society* 127. 729-739.

Velasco-Toledo 2005. Hábitos Alimenticios e Isótopos de  $^{13}\text{C}$  Y  $^{15}\text{N}$  del tiburón mako *Isurus oxyrinchus* (RAFINESQUE, 1810) en la Costa Occidental de Baja California Sur. Tesis Maestría. CICIMAR. 8-12pp.

W. C. Hamlett 1999. *Sharks, skates and rays : Biology of elasmobranch Fishes*. Johns Hopkins University Press. 93-143pp.

Wilson R. P. y Poe W. E., 1974. Nitrogen metabolism in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. III Relative pool sizes of free amino acids and related compounds in various tissues of the catfish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 48B, 545-556.

Zhao L, Castellini M A, Tamara L M, Trumble S. J. 2004. Trophic interactions of Antarctic seals as determined by stable isotope signatures. *Polar Biol* 27: 368–373.