

Methylmercury and total mercury distribution in tissues of gray whales (*Eschrichtius robustus*) and spinner dolphins (*Stenella longirostris*) stranded along the lower Gulf of California, Mexico

Distribución de metilmercurio y mercurio en tejidos de ballenas grises (*Eschrichtius robustus*) y delfines tornillo (*Stenella longirostris*) varados en el bajo Golfo de California, México

Jorge R. Ruelas-Inzunza¹
Milena Horvat²
Héctor Pérez-Cortés³
Federico Páez-Osuna^{4*}

¹ Technological Institute of the Sea
Graduate Program on Marine Sciences and Limnology
Institute of Marine Sciences and Limnology
P.O. Box 757
Mazatlán, Mexico

² Environmental Sciences Department
Jozef Stefan Institute, Jamova 39
1000 Ljubljana, Slovenia

³ National Program on Research and Conservation of Marine Mammals
La Paz, Baja California Sur, México

⁴ Institute of Marine Sciences and Limnology
National Autonomous University of Mexico
P.O. Box 811, Mazatlán, Mexico
*E-mail: paezos@servidor.unam.mx

Recibido en julio de 2002; aceptado en octubre de 2002

Abstract

Four gray whales *Eschrichtius robustus* and eleven spinner dolphins *Stenella longirostris* were found stranded along the coasts of the lower Gulf of California, Mexico. Muscle, kidney and liver samples from all the specimens were used for mercury (Hg) analysis. Mean concentrations of total Hg (THg) were significantly different ($P < 0.05$) in all the tissues of spinner dolphins, resulting in a decreasing order liver>kidney>muscle. Mean values of THg in the three tissues of gray whales were not statistically different. Similarly, methylmercury (MeHg) levels in the analyzed tissues of dolphins and whales were not statistically different. Considering species-related differences, it seems that THg and MeHg levels in the studied marine mammals did not play a key role in the stranding of the specimens, though more studies about the implications of Hg compounds in stranding events are necessary.

Key words: mercury, methylmercury, *Stenella longirostris*, *Eschrichtius robustus*, Gulf of California (Mexico).

Resumen

Se encontraron varadas cuatro ballenas grises *Eschrichtius robustus* y once delfines tornillo *Stenella longirostris* a lo largo de las costas del bajo Golfo de California, México. Se utilizaron muestras de músculo, riñón e hígado de todos los especímenes para los análisis de mercurio (Hg). Las concentraciones medias de Hg total fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$) en todos los tejidos de los delfines tornillo, resultando en un orden decreciente de concentraciones hígado>riñón>músculo. Los valores medios de Hg total en los tres tejidos de las ballenas grises no fueron estadísticamente diferentes. De manera similar, los niveles de metilmercurio (MeHg) en los tejidos analizados de los delfines y de las ballenas no fueron estadísticamente diferentes. Considerando que existen diferencias a nivel de especies, al parecer los niveles de Hg total y de MeHg en los mamíferos marinos estudiados no jugaron un papel decisivo en el varamiento de los organismos, aunque se requieren más estudios acerca de las implicaciones de los compuestos de Hg durante los eventos de varamiento.

Palabras clave: mercurio, metilmercurio, *Stenella longirostris*, *Eschrichtius robustus*, Golfo de California (México).

Introduction

Mercury may occur naturally in the environment (mineral deposits, volcanoes, forest fires, oceanic emission, and crust degassing) or be released by human activities such as mining, mineral processing, chloroalkali production, and combustion of fossil fuels (Renzoni *et al.*, 1998). The contamination of the marine environment by Hg compounds is the result of natural phenomena in conjunction with anthropogenic discharge, especially near the coastline; anthropogenic discharges contribute to an increase of the Hg flux and to the alteration of the chemical forms and species of this trace element present in the water column and sediments (André *et al.*, 1990). Methylmercury is formed in aquatic sediments by bacterial methylation of inorganic Hg. Most of the MeHg so formed enters biological tissue due to its high affinity for sulfhydryl groups and lipids. As a result, an accumulation of Hg (mainly as MeHg) occurs in aquatic organisms, with concurrent biomagnification phenomena throughout the trophic chain. These findings have raised the concerns that marine mammals transiently residing in urban-influenced waters may also experience adverse effects induced by chemical contaminants (Varanasi *et al.*, 1994).

Increasing Hg concentrations are found at higher trophic levels due to the process of biomagnification (Palmisano *et al.*, 1995); however, such metal levels are not the same in all the tissues and organs of specimens. In marine mammals, MeHg is by far the most predominant form of Hg present in the muscle tissue, while the liver content is only a small percent of the total (Palmisano *et al.*, 1995).

Marine mammals sometimes are affected by exposure to metallic pollutants (Szefer *et al.*, 1995). These organisms, with a long life span, can be considered as strong candidates for assessing cumulative and biomagnified pollutants like Hg, and such results can be extrapolated to the human population. Establishing databases on contaminants in marine mammals will help to understand the role of contaminants in mortality events and provide a basis to investigate, predict and mitigate these events (Beck *et al.*, 1997).

The gray whale *Eschrichtius robustus* lives in the northern Pacific and is represented by two populations, an almost extinct asiatic population, and a numerous american population. American specimens migrate from the Bering and Beaufort seas, where they feed during the summer, to the Gulf of California for their reproductive activities (Rice and Wolman, 1971). *Eschrichtius robustus* feeds mainly on small crustaceans (amphipods) by filtering the bottom sediments (Nerini, 1984). The spinner dolphin *Stenella longirostris* is distributed in tropical and subtropical waters all over the world. They feed mainly on squid and fish (Perrin, 1975).

In Mexican waters, studies concerning Hg were carried out in clams and fish (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1988) and in stranded spinner dolphins (Ruelas-Inzunza *et al.*, 2000), but no studies on MeHg levels in stranded marine mammals have been reported. Our preliminary studies evaluated only total Hg in the tissues of spinner dolphins (Ruelas-Inzunza *et al.*, 2000)

Introducción

El mercurio puede presentarse de manera natural en el ambiente (depósitos minerales, volcanes, incendios forestales, emisiones oceánicas y desgasificación de la corteza terrestre) o ser liberado a través de actividades humanas como la minería, el procesamiento de minerales, la producción de cloroalcali y la combustión de combustibles fósiles (Renzoni *et al.*, 1998). La contaminación del ambiente marino por compuestos del Hg es el resultado de los fenómenos naturales y la descarga antropogénica, especialmente cerca de la línea de costa; las descargas de origen humano contribuyen a incrementar el flujo de Hg y a modificar las formas y especies químicas de este elemento en la columna de agua y en los sedimentos (André *et al.*, 1990). El MeHg se forma en los sedimentos por la metilación bacteriana del Hg inorgánico. La mayoría del MeHg formado de esta manera ingresa al tejido biológico debido a su gran afinidad con los grupos sulfhidrilo y los lípidos. Como consecuencia, se da una acumulación de Hg (principalmente como MeHg) en los organismos acuáticos, con los subsecuentes fenómenos de biomagnificación a lo largo de la cadena trófica. Estos descubrimientos han resaltado la importancia de saber en qué medida los mamíferos marinos que viven temporalmente cerca de la influencia de aguas de origen urbano pueden experimentar efectos adversos inducidos por los contaminantes (Varanasi *et al.*, 1994).

La acumulación de Hg en los organismos marinos es bien conocida. Se han encontrado concentraciones mayores de Hg en función del nivel trófico debidas al proceso de biomagnificación (Palmisano *et al.*, 1995), sin embargo, estas concentraciones no son las mismas en todos los tejidos y órganos. En los mamíferos marinos, el MeHg es la forma del Hg predominante en el tejido muscular, mientras que en el hígado su contenido constituye un bajo porcentaje del Hg total (Palmisano *et al.*, 1995).

Los mamíferos marinos algunas veces se ven afectados por la exposición a los contaminantes metálicos (Szefer *et al.*, 1995). Estos organismos de larga vida pueden considerarse como fuertes candidatos para evaluar contaminantes que se acumulan y se biomagnifican, como es el caso del Hg. Por el hecho de ser consumidores de alto nivel, se pueden medir cantidades importantes de Hg y hacer extrapolaciones relevantes a la población humana. Establecer bases de datos acerca de los contaminantes en los mamíferos marinos ayudará a comprender el papel de los contaminantes en eventos de mortalidad, y a proporcionar las bases para investigar, predecir y mitigar estos eventos (Beck *et al.*, 1997).

La ballena gris *Eschrichtius robustus* vive en el Pacífico norte y está representada por dos poblaciones, una población asiática casi extinta, y una población americana muy numerosa. Las ballenas americanas migran desde los mares de Bering y Beaufort, donde se alimentan durante el verano, hasta el Golfo de California para llevar a cabo sus actividades reproductivas (Rice and Wolman, 1971). *Eschrichtius robustus* se alimenta principalmente de pequeños crustáceos (anfípodos) al

and Cd, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in whale tissues (Ruelas-Inzunza and Páez-Osuna, 2002). The present study is an initial effort to document the occurrence of Hg compounds in marine mammals both dolphins and whales during stranding events in the lower Gulf of California.

Methods

The stranded mammals

Four gray whales (*Eschrichtius robustus* Lilljeborg, 1861) were found stranded along the eastern coast of the Gulf of California between February 17 and March 18, 1999 (fig. 1a, b and d). Muscle, kidney and liver samples were taken from every specimen for analysis. In the case of spinner dolphins (*Stenella longirostris* Gray, 1828), eleven stranded specimens were found dead in the Bay of La Paz (fig. 1c), in the lower Gulf of California in August 7, 1993. Specimens were identified, measured and weighed, prior to dissection and separation of every sample. The time elapsed between their stranding and sampling, was from 1 to 5 days depending of the accessibility of the stranding sites. Samples were kept frozen until the laboratory work was initiated. In the laboratory, portions of the different tissues were freeze-dried (Labconco freeze-drying system) for 48 hours at $40\text{--}133 \times 10^{-3}$ mBar and -49°C ; dried samples were ground with an automatic agate mortar (Retsch) for 10 minutes.

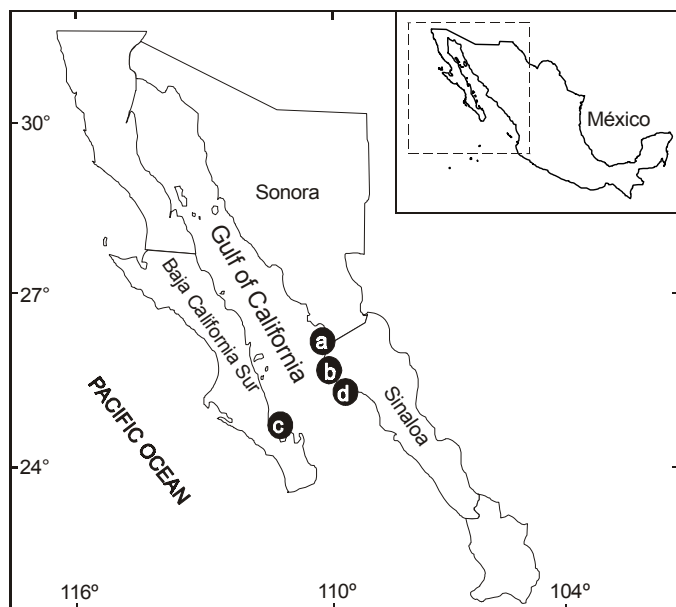


Figure 1. Location of the collection sites of tissue samples of stranded marine mammals in the lower Gulf of California: sites (a), (b) and (d) for gray whales *E. robustus* during 1999; and site (c) for spinner dolphins *S. longirostris* during 1993.

Figura 1. Localización de los sitios donde se recolectaron las muestras de tejidos de mamíferos marinos en el bajo Golfo de California: los sitios (a), (b) y (d) corresponden a las ballenas grises *E. robustus*, durante 1999; y el sitio (c) a los delfines tornillo *S. longirostris*, durante 1993.

filtrar los sedimentos del fondo (Nerini, 1984). El delfín tornillo *Stenella longirostris* se distribuye en aguas tropicales y subtropicales de todo el mundo, y se alimenta principalmente de calamares y peces (Perrin, 1975).

En aguas mexicanas se han realizado estudios relacionados con Hg, en almejas y peces (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1988) y en delfines tornillo varados (Ruelas-Inzunza *et al.*, 2000), pero no existen estudios acerca de los niveles de MeHg en mamíferos marinos varados. En nuestros estudios previos se evaluó solamente el Hg total en los tejidos de los delfines tornillo (Ruelas-Inzunza *et al.*, 2000) y Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn en tejidos de ballenas (Ruelas-Inzunza and Páez-Osuna, 2002). El presente estudio constituye un esfuerzo inicial para documentar la presencia de compuestos del Hg en mamíferos marinos, tanto delfines como ballenas, durante eventos de varamiento en el bajo Golfo de California.

Métodos

Los mamíferos varados

Se encontraron varadas cuatro ballenas grises (*Eschrichtius robustus* Lilljeborg, 1861) a lo largo de la costa este del Golfo de California entre el 17 de febrero y el 18 de marzo de 1999 (fig. 1a, b y d). De cada espécimen se tomaron muestras de músculo, riñón e hígado para su análisis. En el caso de los delfines tornillo (*Stenella longirostris* Gray, 1828), el 7 de agosto de 1993 se encontraron varados once organismos en la Bahía de La Paz (fig. 1c) en el bajo Golfo de California. Los organismos fueron identificados, medidos y pesados antes de su disección para la toma de muestras. El tiempo transcurrido entre el varamiento y la toma de muestras fue de 1 a 4 días, dependiendo de la accesibilidad del sitio de varamiento. Las muestras se mantuvieron en congelación hasta el inicio del trabajo de laboratorio. En el laboratorio, las porciones de los diferentes tejidos se liofilizaron (sistema de liofilización Labconco) durante 48 horas a una presión de $40\text{--}133 \times 10^{-3}$ mBar y una temperatura de -49°C ; las muestras secas se molieron en un mortero de ágata automático (Retsch) durante 10 minutos.

Análisis de mercurio

Se utilizaron duplicados de cada muestra para los análisis de Hg total (THg) y MeHg. La digestión de los tejidos (alícuotas de 0.25 g) para los análisis de Hg total se hizo utilizando HNO_3 concentrado (5 mL) con un sistema de digestión de microondas (CEM, MDS, 2000) con la finalidad de descomponer y oxidar las muestras, y convertir cualquier forma orgánica del Hg a la forma inorgánica (MESL, 1997). La determinación del Hg total se realizó por medio de un generador de vapor acoplado a un espectrofotómetro de absorción atómica; el Hg inorgánico fue reducido a su forma elemental con SnCl_2 y el vapor frío de Hg fue pasado a través de una celda de absorción de cuarzo del espectrofotómetro de absorción atómica donde se midió su concentración (MESL, 1997).

Mercury analysis

Duplicates of every sample were used for THg and MeHg analysis. The digestion of tissues (0.25-g aliquots) for THg analysis was made by using concentrated HNO₃ (5 ml) with a microwave digestion system (CEM-MDS, 2000) in order to decompose the samples, and oxidize and convert any organic forms of Hg into inorganic Hg (MESL, 1997). Determination of THg was made by means of a vapor generator coupled to an atomic absorption spectrophotometer (VGA-AAS); inorganic Hg was reduced to its elemental form with SnCl₂, cold Hg vapor was then passed through a quartz absorption cell of an atomic absorption spectrophotometer (AAS) in which its concentration was measured (MESL, 1997).

In the case of MeHg, the pretreatment of samples consisted on acid leaching with 6M HCl, centrifugation and separation of organic and inorganic Hg on an ion-exchange resin (Dowex 1×8, 100–200 mesh size). After the separation of Hg forms, samples were subjected to UV radiation for two days (MESL, 1997). Determination of Hg was made by VGA-AAS following the same steps as for THg. In order to assure the quality of the analysis dogfish liver certified reference material (DOLT-2; National Research Council of Canada) was analyzed. The agreement between the analytical results for the reference material and their certified values was satisfactory; i.e. recoveries were 98.0% for THg and 92.8% for MeHg, and precision varied ±0.05% for THg and ±2.6% for MeHg. To check for contamination, blanks were also analyzed using this procedure after every 6–8 samples were analyzed.

Statistical analysis

The normality of concentration data was assessed by a Kolmogorov-Smirnoff test. Mean concentrations of THg and MeHg in the different tissues were compared (one-way ANOVA) in order to define significant differences. The statistical analysis was conducted using GraphPad Prism 2.01 (Graph Pad Software Inc., San Diego CA).

Results and discussion

Biological data

From the morphometric and age data in table 1, all the analyzed specimens were considered as adults. Gray whales were not aged though only morphometric data were provided. Perrin (1975) reported that newborn spinner dolphins *S. longirostris* from the eastern Pacific are 80 cm in length and can reach a total length of 200 cm when adults. In this study the mean length (181 cm) and weight (46.9 kg) were within the ranges reported. In the case of the gray whales *E. robustus*, the reported mean length ranges from 14.5 m in adults to 4.5 m in newborns (Urbán-Ramírez *et al.*, 1997); the mean length of the stranded whales was 9.5 m. In Cetacea, sexual maturity is established by gross and microscopic examination of the

En el caso del MeHg, el pretratamiento de las muestras consistió en un filtrado con HCl 6M, centrifugación y separación de las formas orgánica e inorgánica con una resina de intercambio iónico (Dowex 1×8, 100–200 tamaño del poro). Después de la separación de las formas del Hg, las muestras se sometieron a radiación UV durante 2 días (MESL, 1997). La determinación del Hg se hizo por generación de vapor frío de Hg acoplado a un espectrofotómetro de absorción atómica siguiendo los mismos pasos que para el Hg total. Para asegurar la calidad de los análisis, se utilizó material de referencia (DOLT-2; Consejo Nacional de la Investigación de Canadá). Los resultados analíticos del material de referencia concordaron de manera satisfactoria con sus valores certificados; i.e. el porcentaje de recuperación fue de 98.0% para THg y 92.8% para MeHg, y la precisión varió de ±0.05% para THg y ±2.6% para MeHg. Para verificar una posible contaminación, los blancos fueron también analizados mediante este procedimiento cada 6–8 muestras.

Análisis estadístico

Se evaluó la normalidad de los datos de concentración de Hg por medio de una prueba de Kolmogorov-Smirnoff. Se compararon las concentraciones medias (análisis de varianza de una vía) de THg y MeHg en los diferentes tejidos con la finalidad de establecer diferencias significativas. Los análisis estadísticos se hicieron utilizando el paquete GraphPad Prism 2.01 (Graph Pad Software Inc., San Diego CA).

Resultados y discusión

Datos biológicos

A partir de los datos morfométricos y de edad proporcionados en la tabla 1, se puede considerar que todos los organismos analizados estaban en la etapa adulta. A las ballenas grises no se les determinó la edad, por lo que solamente se proporcionan datos morfométricos. Perrin (1975) reportó que los delfines tornillo *S. longirostris* recién nacidos provenientes del Pacífico oriental miden 80 cm de longitud, y pueden alcanzar una longitud total de 200 cm en la etapa adulta; para los delfines utilizados en este estudio la longitud media (181 cm) y el peso medio (46.9 kg) estuvieron dentro de los intervalos reportados para esta especie. En el caso de las ballenas grises, la longitud media varía de 14.5 m en los adultos a 4.5 m en los recién nacidos (Urbán-Ramírez *et al.*, 1997); la longitud media de las ballenas varadas fue de 9.5 m. En los cetáceos, la madurez sexual se establece a través de la observación microscópica de las gónadas y, de ser posible, los órganos reproductores. La madurez sexual no siempre corresponde con el inicio de la reproducción (Bryden, 1972).

Concentraciones de Hg total y MeHg

Las concentraciones medias de THg fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$) en todos los tejidos de los

Table 1. Biological data and sampling dates of stranded gray whales (*E. robustus*) and spinner dolphins (*S. longirostris*) in the lower Gulf of California.
Tabla 1. Datos biológicos y fechas de muestreo de las ballenas grises (*E. robustus*) y delfines tornillo (*S. longirostris*) varados en el bajo Golfo de California.

Species	Sex	Length (m)	Weight	Age (y)	Date	Site
<i>E. robustus</i>	F	10	3.0 ton	N. D.	Feb/17/99	Jitzamuri, Sinaloa (109°15'W; 26°14.8'N)
<i>E. robustus</i>	M	9	2.5 ton	N. D.	Feb/19/99	Angostura, Sinaloa (108°7.8'W; 25°6'N)
<i>E. robustus</i>	F	12	10.0 ton	N. D.	Feb/27/99	Altamura, Sinaloa (108°14.2'W; 25°05'N)
<i>E. robustus</i>	F	7	1.5 ton	N. D.	Mar/18/99	Topolobampo, Sinaloa (109°10.4'W; 25°36'N)
<i>S. longirostris</i>	F	1.78	43.9 kg	14	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°36'N)
<i>S. longirostris</i>	M	1.84	55.2 kg	15	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	M	1.86	52.6 kg	10	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	M	1.67	39.3 kg	10	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	M	1.93	56.6 kg	16	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	F	1.71	43.1 kg	11	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	M	1.85	50.3 kg	N. D.	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	M	1.88	48.7 kg	N. D.	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	F	1.84	38.5 kg	N. D.	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	M	1.83	49.3 kg	12	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)
<i>S. longirostris</i>	F	1.75	39.2 kg	N. D.	Aug/07/93	La Paz, B. C. S. (110°18.6'W; 25°10'N)

N. D.: not determined; F: female; M: male

Table 2. Total mercury and methylmercury concentration (ng g^{-1} d. w.) in muscle, kidney and liver of gray whales *E. robustus* and spinner dolphins *S. longirostris* from the lower Gulf of California.

Tabla 2. Concentración de Hg total y MeHg (ng g^{-1} en peso seco) en músculo, riñón e hígado de ballena gris *E. robustus* y delfín tornillo *S. longirostris* del bajo Golfo de California.

Species	Tissue	THg	MeHg	%MeHg
<i>E. robustus</i> (n = 4)	muscle	145 ± 82	109 ± 40	75.2
	kidney	277 ± 140	51 ± 22	18.4
	liver	185 ± 82	42 ± 34	22.7
<i>S. longirostris</i> (n = 11)	muscle	1274 ± 281	946 ± 157	74.3
	kidney	6959 ± 1728	528 ± 107	7.6
	liver	61219 ± 28641	1004 ± 350	1.6

gonads, and where possible, the reproductive organs. Sexual maturity does not always correspond to the beginning of reproduction (Bryden, 1972).

Hg and MeHg concentrations

Mean concentrations of THg were significantly different ($P < 0.05$) in all the tissues of spinner dolphins, resulting in a decreasing order liver>kidney>muscle. The total Hg values in the three tissues of gray whales were not statistically different. Methylmercury levels in the analyzed tissues of dolphins and whales were not statistically different.

In gray whales, the mean THg values presented in table 2 were highest in kidney, followed by liver and muscle. Regarding MeHg, the order was muscle>kidney>liver. The mean

delfines tornillo, dando como resultado una secuencia hígado>riñón>músculo (tabla 2). Para el caso de las ballenas grises los valores de THg no fueron estadísticamente diferentes en ninguno de los tejidos. Los niveles de MeHg en los tejidos analizados, tanto de los delfines como de las ballenas, no fueron estadísticamente diferentes.

En las ballenas grises, los valores medios de THg presentados en la tabla 2 fueron mayores en el riñón, seguidos del hígado y del músculo. Con respecto al MeHg, el orden encontrado fue músculo>riñón>hígado. El porcentaje promedio de MeHg fue más elevado en el músculo (75.2%) que en el hígado (22.7%) y el riñón (18.4%). Cuando se compara con otros metales pesados también examinados en estas ballenas grises de la misma área de estudio (Ruelas-Inzunza y Páez-Osuna, 2002) se puede observar que el Cd es acumulado en el mismo

percentage of MeHg was higher in the muscle (75.2%) than in liver (22.7%) and kidney (18.4%). Comparing with other heavy metals examined in these same gray whales from the same study area (Ruelas-Inzunza and Páez-Osuna, 2002) it is evident that Cd is accumulated in the same tissue order than THg, but Cu, Mn, Pb and Zn had a contrasting pattern.

In the case of the spinner dolphins, the mean levels of MeHg were highest in the liver, followed by muscle and kidney. From the mean percents of MeHg, figures for muscle (74.3%) were higher than for kidney (7.6%) and for liver (1.6%) (table 2).

Working with aquatic organisms and specially with large whales, often poses several problems: firstly, it is not possible to determine whether the concentrations found are a result of natural environmental levels or are affected to some extent by anthropogenic activities; secondly, the influence of biological parameters on the dynamics of metals in whales has not been well established and it is unknown how biochemical and physiological processes during aging could affect metal concentrations, not to mention antagonistic or synergistic effects among different metals (Sanpera *et al.*, 1996).

It is well known that MeHg is harmful for marine mammals, even though kidney and liver accumulate a high proportion of it and no apparent damage occurs. In this sense, most of the Hg accumulated in the marine mammal liver, being inorganic, suggests that this organ is a demethylation site (Caurant *et al.*, 1996). As suggested by Bryan (1984), the demethylation mechanism has evolved in response to biomagnification of MeHg either in species at high food chain levels or in individuals of the same species with highest levels of Hg.

A comparison of our data shows that the dolphins analyzed had lower levels of THg in the liver tissue than specimens from other sites, such as *Stenella coeruleoalba* (Frodello *et al.*, 2000), *Delphinus delphius* (Law *et al.*, 1992), *Lagenorhynchus acutus* (Law *et al.*, 1991) and *Tursiops truncatus* (Storelli and Marcotrigiano, 2000). Regarding gray whales, similarly, our data results were lower than the values reported for the same species (Varanasi *et al.*, 1994) and *Mesoplodon densirostris* (Law *et al.*, 1997). It is necessary to point out that except for *Delphinus delphius* all the specimens were found stranded. Regardless the levels found, it is particularly difficult to demonstrate a causal link between pollution and the strandings of marine mammals given the lack of a sufficient number of tissue samples from both healthy and stranded animals, and the inability to conduct controlled laboratory studies with live animals, particularly with large marine mammals (Varanasi *et al.*, 1994).

Law *et al.* (1992) studied the levels of certain metals (including Hg) in marine mammals and found low levels that were unlikely to have contributed to mortality. Additionally, several considerations should be taken into account: firstly, it is not possible to determine whether the concentrations found are a result of natural environmental levels or are affected to some extent by anthropogenic activities (Sanpera *et al.*, 1996); secondly, the concentrations of trace elements have been

orden que el THg en los tejidos, pero el Cu, Mn, Pb y Zn tuvieron un patrón contrastante.

En el caso de los delfines tornillo, las concentraciones medias de THg siguieron el orden hígado>riñón>músculo. Los valores medios de MeHg fueron mayores en el hígado, seguidos por los del músculo y el riñón. Al calcular los porcentajes medios de MeHg se obtuvieron mayores valores en el músculo (74.3%) que en el riñón (7.6%) y el hígado (1.4%) (tabla 2). En las ballenas grises, la falta de datos suficientes fue otro factor que no permitió llevar a cabo la correlación entre las concentraciones de Hg y la talla de los organismos.

Trabajar con organismos acuáticos, especialmente con grandes ballenas, usualmente representa diversos problemas: en primer lugar no es posible determinar si las concentraciones encontradas son el resultado de los niveles de concentración en el ambiente natural o si aquellas son afectadas por las actividades antropogénicas; en segundo lugar, la influencia de los parámetros biológicos sobre la dinámica de los metales en las ballenas no ha sido bien establecida, y se desconoce de que manera los procesos bioquímicos y fisiológicos durante el envejecimiento pueden afectar las concentraciones de metales, además de los efectos antagonísticos o sinérgicos entre diversos metales (Sanpera *et al.*, 1996).

Se sabe que el MeHg es dañino para los mamíferos marinos, aun cuando el riñón y el hígado acumulan una gran proporción de éste sin una alteración aparente. En este sentido, la mayor parte del Hg que se acumula en el hígado de los mamíferos marinos en forma inorgánica sugiere que este órgano constituye un sitio de desmetilación (Caurant *et al.*, 1996). Como se ha sugerido por Bryan (1984), el mecanismo de desmetilación ha evolucionado como respuesta a la biomagnificación del MeHg, ya sea en especies de alto nivel trófico o en individuos de la misma especie con mayores niveles de Hg.

La comparación de nuestros datos muestra que los delfines analizados presentaron menores niveles de THg en el hígado, que especímenes de otros sitios tales como *Stenella coeruleoalba* (Frodello *et al.*, 2000), *Delphinus delphius* (Law *et al.*, 1992), *Lagenorhynchus acutus* (Law *et al.*, 1991) y *Tursiops truncatus* (Storelli y Marcotrigiano, 2000). Con respecto a las ballenas grises, de manera similar, nuestros datos resultan menores que los valores reportados para la misma especie por Varanasi *et al.* (1994) y para *Mesoplodon densirostris* (Law *et al.*, 1997). Es necesario señalar que, con excepción de los especímenes de *Delphinus delphius*, todos los organismos han sido encontrados varados. Independientemente de los niveles encontrados, es particularmente difícil demostrar una relación causal entre la contaminación y los varamientos de mamíferos marinos debido a problemas inherentes a la disponibilidad de un número suficiente de muestras provenientes de organismos sanos y organismos varados, además de la imposibilidad de realizar estudios controlados en el laboratorio con animales vivos, particularmente con grandes mamíferos marinos (Varanasi *et al.*, 1994).

Law *et al.* (1992) estudiaron los niveles de algunos metales (incluyendo al Hg) en mamíferos marinos, y encontraron

shown to vary substantially from group to group (Caurant *et al.*, 1996); and lastly, a combined effect of some kind of pathogen and an impairment of the immunological system might account for such mortality events.

Considering the water content for the different tissues and the reported units, MeHg levels for this study were lower to the values reported elsewhere (Caurant *et al.*, 1996; Storelli *et al.*, 1998; 1999). The limit of tolerance for Hg in mammalian hepatic tissue seems to be within the range 100–400 mg/kg wet weight (Wagemann and Muir, 1984).

In marine mammals, MeHg is by far the most predominant form of Hg present in muscle tissues, while in liver its content is only a few percent of the total (Palmisano *et al.*, 1995). In muscle, MeHg is firmly bonded by carbon-mercury and sulphhydryl linkages, which could account for the high ratio of organic Hg in this tissue, while in the liver the low percentage of organic Hg observed supports the hypothesis of a demethylating activity in this organ (Storelli *et al.*, 1999).

Acknowledgements

Special thanks are due to V. Jereb for laboratory assistance, C. Ramírez-Jáuregui for the information compilation, to G. Ramírez-Reséndiz and C. Suárez-Gutiérrez for computing assistance, and to L. A. Fleischer for the collection of biological material. Financial support was provided by the National Council of Science and Technology, project 0185P-T (Mexico); and by an IAEA fellowship (Austria).

References

- André, J.M., Ribeyre, F. and Boudou, A. (1990). Mercury contamination levels and distribution in tissues and organs of delphinids (*Stenella attenuata*) from the Eastern Tropical Pacific, in relation to biological and ecological factors. *Mar. Environ. Res.*, 30: 43–72.
- Beck, K.M., Fair, P., McFee, W. and Wolf, D. (1997). Heavy metals in livers of bottlenose dolphins stranded along the south Carolina coast. *Mar. Pollut. Bull.*, 9: 734–739.
- Bryan, G.W. (1984). Pollution due to heavy metals and their compounds. In: O. Kinne (ed.), *Marine Ecology*, Vol. 5, Part 3. J. Wiley and Sons, New York, pp. 1289–1431.
- Bryden, M.M. (1972). Growth and development of marine mammals. In: R. J. Harrison (ed.), *Functional Anatomy of Marine Mammals* Vol. 1. Academic Press, London, pp. 3–14.
- Caurant, F., Navarro, M., and Amiard, J.C. (1996). Mercury in pilot whales: possible limits to the detoxification process. *Sci. Total Environ.*, 186: 96–104.
- Frodello, J.P., Roméo, M. and Viale, D. (2000). Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environ. Pollut.*, 108: 447–452.
- Gutiérrez-Galindo, E.A., Flores-Muñoz, G., Aguilar-Flores, A. (1988). Mercury in freshwater fish and clams from the Cerro Prieto Geothermal field of Baja California, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 41: 201–207.
- Klinowska, M. (1988). Strandings—fact and fiction. In: R. Harrison and M.M. Bryden (eds.), *Whales, dolphins and porpoises*. Facts On File Publications, USA, pp. 216–229.

niveles bajos que probablemente no contribuyeron a la mortalidad de los organismos. Adicionalmente, hay que tomar en cuenta diversas consideraciones: en primer lugar, no es posible determinar si las concentraciones encontradas son el resultado de los niveles de concentración ambientales naturales o si aquellas son afectadas en cierto grado por las actividades antropogénicas (Sanpera *et al.*, 1996); en segundo lugar, las concentraciones de metales pesados varían sustancialmente de grupo a grupo (Caurant *et al.*, 1996); y por último, el efecto combinado de algún patógeno con daños al sistema inmunológico podría contribuir a los eventos de mortalidad.

De acuerdo al contenido de humedad y las unidades de medición, los niveles de MeHg en este estudio fueron inferiores a los valores reportados en otros trabajos (tabla 4). El límite de tolerancia al Hg en el tejido hepático de los mamíferos parece estar entre 100–400 mg/kg con base a peso húmedo (Wagemann y Muir, 1984).

En los mamíferos marinos, el MeHg es la forma química predominante del Hg en el músculo, mientras que en el hígado su contenido constituye solamente un bajo porcentaje del total (Palmisano *et al.*, 1995). En el músculo, el MeHg está firmemente unido por enlaces con el carbono y el grupo sulfhidrilo, lo cual podría influir en la elevada proporción de Hg en este tejido, mientras que en el hígado el bajo porcentaje de Hg orgánico encontrado da soporte a la hipótesis de la actividad de desmetilación en este órgano (Storelli *et al.*, 1999).

Agradecimientos

Agradecemos especialmente a V. Jereb por su ayuda en el laboratorio, a G. Ramírez-Jáuregui por la compilación de información, a G. Ramírez-Reséndiz y C. Suárez-Gutiérrez por su asistencia computacional, y a L.A. Fleischer por la recolecta de material biológico. Se tuvo el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto 0185P-T), de México, y de una beca IAEA de Austria.

English translation by the authors.

- Law, R.J., Allchin, C.R., Jones, B.R., Jepson, P.D., Baker, J.R. and Spurrier, C.J.H. (1997). Metals and Organochlorines in Tissues of a Blainville's Beaked Whale (*Mesoplodon densirostris*) and a Killer Whale (*Orcinus orca*) stranded in the United Kingdom. *Mar. Pollut. Bull.*, 3: 208–212.
- Law, R.J., Fileman, C.F., Hopkins, A.D., Baker, J.R., Harwood, J., Jackson, D.B., Kennedy, S., Martin, A.R. and Morris, R.J. (1991). Concentrations of trace metals in the livers of marine mammals (seals, porpoises and dolphins) from waters around the British Isles. *Mar. Pollut. Bull.*, 4: 183–191.
- Law, R.J., Jones, B.R., Baker, J.R., Kennedy, S., Milnes, R. and Morris, R.J. (1992). Trace metals in the livers of marine mammals from the Welsh Coast and the Irish Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, 6: 296–304.
- Marine Environmental Studies Laboratory, MESL (1997). International Atomic Energy Agency. Inorganic Laboratory. Standard Operating Procedures. Monaco, 66 pp.

- Nerini, M. (1984). A review of gray whale feeding ecology. In: M.L. Jones, S.L. Swartz and S. Leatherwood (eds.), *The Gray Whale Eschrichtius robustus*, Orlando, pp. 423–450.
- Palmisano, F., Cardellicchio, N. and Zamboni, P.G. (1995). Speciation of mercury in dolphin liver: a two-stage mechanism for the demethylation accumulation process and role of selenium. *Mar. Environ. Res.*, 2: 109–121.
- Perrin, W.F. (1975). Variation of spotted and spinner porpoises (genus *Stenella*) in the eastern Pacific and Hawaii. *Bull. Scripps Inst. Ocean.*, 21: 1–206.
- Renzoni, A., Zino, F., Franchi, E. (1998). Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. *Environ. Res.*, 77: 68–72.
- Rice, D.W. and Wolman, A.A. (1971). The life history and ecology of the gray whale (*Eschrichtius robustus*). *Spec. Publ. Am. Soc. Mammal.*, 3: 1–142.
- Ruelas-Inzunza J., Páez-Osuna, F. and Pérez-Cortés, H. (2000). Distribution of mercury in muscle, liver and kidney of the spinner dolphin (*Stenella longirostris*) stranded in the Southern Gulf of California. *Mar. Pollut. Bull.*, 40: 1063–1066.
- Ruelas-Inzunza, J. and Páez-Osuna, F. (2001). Distribution of Cd, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn in selected tissues of juvenile whales stranded in the SE Gulf of California (Mexico). *Environ. Intern.*, 28: 325–329.
- Sanpera, C., González, M. and Jover, L. (1996). Heavy metals in two populations of north Atlantic fin whales (*Balaenoptera physalus*). *Environ. Pollut.*, 3: 299–307.
- Storelli, M.M., Ceci, E. and Marcotrigiano, G.O. (1998). Comparison of total mercury, methylmercury, and selenium in muscle tissues and in the liver of *Stenella coeruleoalba* (Meyen) and *Caretta caretta* (Linnaeus). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 61: 541–547.
- Storelli, M.M. and Marcotrigiano, G.O. (2000). Environmental contamination in bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): relationship between levels of metals, methylmercury, and organochlorine compounds in an adult female, her neonate, and a calf. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 64: 333–340.
- Storelli, M.M., Zizzo, N. and Marcotrigiano, G.O. (1999). Heavy metals and methylmercury in tissues of Risso's dolphin (*Grampus griseus*) and Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*) stranded in Italy (south Adriatic sea). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 63: 703–710.
- Szefer, P., Malinga, M., Czarnowski, W. and Skóra, K. (1995). Toxic, essential and non-essential metals in harbour porpoises of the Polish Baltic Sea. In: A.S. Blix, L. Walloe and O. Ulltang (eds.), *Whales, Seals, Fish and Man*. Elsevier Science, London, pp. 617–622.
- Urbán-Ramírez, J., Gallardo-Unzueta, A.G., Palmeros-Rodríguez, M., Velázquez-Chávez, G. (1997). Los mamíferos marinos de la bahía de La Paz, Baja California Sur. In: J. Urbán-Ramírez y M. Ramírez-Rodríguez (eds.). *La Bahía de La Paz, investigación y conservación*. UABCS-CICIMAR-SCRIPPS, México, pp. 201–236.
- Varanasi, U., Stein, J.E., Tilbury, L., Meador, J.P., Sloan, C.A., Clark, R.C. and Chan, S.L. (1994). Chemical contaminants in gray whales (*Eschrichtius robustus*) stranded along the west coast of North America. *Sci. Total Environ.*, 145: 29–53.
- Wagemann, R. and Muir, D.C.G. (1984). Concentrations of heavy metals and organochlorines in marine mammals of northern waters: overview and evaluation. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1279–1280.