



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**EVALUACIÓN DE LOS PERFILES DE ÁCIDOS
GRASOS DEL LOBO MARINO DE CALIFORNIA**
Zalophus californianus EN ESTUDIOS DE
ALIMENTACIÓN

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

PRESENTA

LARISSA CUPA CEDILLO

LA PAZ, B. C. S., FEBRERO DE 2007



SIP-14

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

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 15 del mes de Enero del 2007 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

"EVALUACIÓN DE LOS PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS DEL LOBO MARINO DE CALIFORNIA
***Zalophus californianus* EN ESTUDIOS DE ALIMENTACIÓN"**

Presentada por el alumno:

CUPA

Apellido paterno

CEDILLO

materno

LARISSA

nombre(s)

Con registro:

B	0	4	1	1	9	2
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA

Director de tesis
PRIMER VOCAL

DR. DAVID AURIOLES GAMBOA

PRESIDENTE

DRA. LAURA SÁNCHEZ VELASCO

SECRETARIO

DR. SERGIO AGUINIGA GARCÍA

SEGUNDO VOCAL

MC. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE

TERCER VOCAL

DRA. MA. ISABEL DE LOS DOLORES CASTRO GONZÁLEZ
Co-Directora

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE





INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 29 del mes Enero del año 2007, el (la) que suscribe LARISSA CUPA CEDILLO alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro B041192 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DR. DAVID AURIOLES GAMBOA y cede los derechos del trabajo titulado: "EVALUACIÓN DE LOS PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS DEL LOBO MARINO DE CALIFORNIA
Zalophus californianus EN ESTUDIOS DE ALIMENTACIÓN"
al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: lara923@hotmail, dgamboa@ipn.mx

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


LARISSA CUPA CEDILLO

nombre y firma

ÍNDICE GENERAL

LISTA DE TABLAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iii
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	v
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Lobo marino de California.....	1
1.2 Métodos para estudiar la dieta en pinnípedos y análisis de ácidos grasos.....	2
1.3 Ácidos grasos.....	4
II.ANTECEDENTES.....	8
III. JUSTIFICACIÓN.....	9
IV. OBJETIVOS.....	10
CAPÍTULO I	11
COMPARACIÓN DE PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS DE PLASMA Y GRASA SUBCUTÁNEA ENTRE MADRES Y CRÍAS DE LOBO MARINO	
I. Introducción.....	11
II. Metodología.....	12
2.1 Área de estudio.....	12
2.2 Muestreo.....	13
2.3 Análisis de datos.....	15
III. Resultados.....	17
3.1 Plasma.....	17
3.2 Grasa subcutánea.....	21
IV. Discusión.....	26
4.1 Composición de ácidos grasos en el plasma y patrón espacial.....	26
4.2 Composición de ácidos grasos en la grasa subcutánea y patrón espacial.....	28
4.3 Comparación de perfiles de ácidos grasos entre hembras y crías.....	29

V. Conclusiones.....	32
CAPÍTULO II.....	34
VARIABILIDAD EN LOS PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS DEL PLASMA Y	
GRASA SUBCUTÁNEA DE CRÍAS DE LOBO MARINO	
I. Introducción.....	34
II. Metodología.....	35
2.1 Área de estudio.....	35
2.2 Muestreo.....	36
2.3 Análisis de datos.....	36
2.3.1 <i>Variabilidad en los perfiles de ácidos grasos con respecto</i>	
<i>al sexo, peso edad y tiempo relativo de ayuno de las crías.....</i>	<i>37</i>
2.3.2 <i>Comparación entre perfiles de grasa subcutánea y plasma.....</i>	<i>40</i>
III. Resultados.....	40
3.1 Corrección de valores de ácidos grasos en el plasma.....	40
3.2 Variabilidad en los perfiles de ácidos grasos del plasma con	
respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno.....	42
3.3 Corrección de valores de ácidos grasos en la grasa subcutánea.....	47
3.4 Variabilidad en los perfiles de ácidos grasos de la grasa	
subcutánea con respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo de	
ayuno.....	48
3.5 Comparación entre perfiles de grasa subcutánea y plasma.....	54
IV. Discusión.....	55
4.1 Variabilidad en los perfiles de ácidos grasos del plasma con	
respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno.....	55
4.2 Variabilidad en los perfiles de ácidos grasos de la grasa	
subcutánea con respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo	
de ayuno.....	59
4.3 Comparación entre perfiles de ácidos grasos de la grasa	
subcutánea y plasma.....	62
V. Conclusiones.....	63

CAPÍTULO III.....	64
POTENCIAL DE LA COMPOSICIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN	
CRÍAS DE LOBO MARINO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE DIETAS	
DENTRO DE LA POBLACIÓN	
I. Introducción.....	64
II. Metodología.....	65
2.1 Área de estudio.....	65
2.2 Marcaje satelital.....	65
2.3 Análisis de excretas.....	65
2.4 Análisis de ácidos grasos.....	67
2.5 Análisis de isótopos estables.....	67
III. Resultados.....	68
3.1 Marcaje satelital.....	68
3.2 Análisis de excretas.....	70
3.3 Análisis de ácidos grasos.....	72
3.4 Análisis de isótopos estables.....	73
IV. Discusión.....	75
4.1 Telemetría satelital.....	75
4.2 Análisis de excretas.....	77
4.3 Análisis de ácidos grasos.....	79
4.4 Análisis de isótopos estables.....	80
V. Conclusiones.....	85
CONSIDERACIONES FINALES.....	86
RECOMENDACIONES.....	87
REFERENCIAS.....	88
APÉNDICE I.....	98
APÉNDICE II.....	102
APÉNDICE III.....	103

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Número de parejas madre-cría muestreadas en cada colonia reproductora.....	14
Tabla 2. Concentraciones promedio de AG expresadas en porcentaje $\pm$ Error estándar en plasma de hembras y crías de lobo marino de California.....	18
Tabla 3. Concentraciones promedio de AG expresadas en porcentaje $\pm$ Error estándar en grasa subcutánea de hembras y crías de lobo marino de California.....	23
Tabla 4. Características del muestreo por sexo y tejido en crías de lobo marino de Los Islotes.....	38
Tabla 5. Características del muestreo por peso y tejido en crías de lobo marino de Los Islotes.....	38
Tabla 6. Características del muestreo por edad y tejido en crías de lobo marino de Los Islotes.....	39
Tabla 7. Características del muestreo por tiempo relativo de ayuno y tejido en crías de lobo marino de Los Islotes.....	39
Tabla 8. Concentraciones promedio de AG expresadas en porcentaje $\pm$ Error estándar en plasma de crías de lobo marino de California.....	41
Tabla 9. Concentraciones promedio de AG del plasma expresadas en porcentajes $\pm$ error estándar de acuerdo al sexo de las crías de lobo marino.....	42
Tabla 10. Concentraciones promedio de AG del plasma expresadas en porcentajes $\pm$ error estándar de acuerdo al peso de las crías de lobo marino.....	43
Tabla 11. Concentraciones promedio de AG del plasma expresadas en porcentajes $\pm$ error estándar de acuerdo la edad de las crías de lobo marino.....	44

Tabla 12. Concentraciones promedio de AG del plasma expresadas en porcentajes $\pm$ error estándar de acuerdo al tiempo relativo de ayuno de las crías de lobo marino.....	45
Tabla 13. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea expresadas en porcentaje $\pm$ error estándar en crías de lobo marino.....	47
Tabla 14. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea de acuerdo al sexo de las crías, expresadas en porcentaje $\pm$ error estándar.....	49
Tabla 15. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea de acuerdo al peso de las crías, expresadas en porcentaje $\pm$ error estándar.....	50
Tabla 16. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea de acuerdo a la edad de las crías, expresadas en porcentaje $\pm$ error estándar.....	51
Tabla 17. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea de acuerdo al tiempo relativo de ayuno de las crías, expresadas en porcentaje $\pm$ error estándar.....	52
Tabla 18. Concentraciones promedio de AG expresadas en porcentajes $\pm$ error estándar en plasma y grasa de crías de lobo marino.	54
Tabla 19. Presas con el mayor porcentaje de importancia (IIMP) para la colonia de Los Islotes de junio de 2000 a marzo de 2001. ...	70
Tabla 20. Hábitat de las presas principales del lobo marino durante el periodo de estudio.....	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ácido graso saturado(a), ácido graso poliinsaturado (b)..	5
Figura 2. Triacilglicérido.....	6
Figura 3. Ácido graso con configuración trans y cis.....	7
Figura 4. Diagrama de flujo con las tres etapas del estudio.....	10
Figura 5. Colonias reproductivas (loberías) del lobo marino de California en el Golfo de California	13
Figura 6. Dendrograma de clasificación de muestras de plasma.....	19
Figura 7. Gráfica de componentes principales de las muestras de plasma.....	20
Figura 8. Gráfica 3D de componentes principales de los AG en muestras de plasma de madres y crías de lobo marino.....	21
Figura 9. Dendrograma de clasificación de muestras de grasa.....	24
Figura 10. Gráfica de componentes principales de las muestras de grasa.....	25
Figura 11. Gráfica 3D de componentes principales de las muestras de grasa.....	26
Figura 12. Transferencia de los AG hacia la cría durante la lactancia en los lobos marinos.....	30
Figura 13. Transferencia de los AG hacia la cría durante el periodo perinatal ó en condiciones de ayuno prolongado.....	30
Figura 14. Localización geográfica de la colonia reproductora de Los Islotes.....	35
Figura 15. Dendrograma de clasificación basado en el perfil de AG del plasma de las crías de lobo marino.....	46
Figura 16. Análisis de componentes principales basado en el perfil de AG del plasma de las crías de lobo marino.....	46
Figura 17. Dendrograma de clasificación basado en el perfil de AG de la grasa subcutánea de las crías de lobo marino.....	53

Figura 18. Análisis de componentes principales basado en el perfil de AG de la grasa subcutánea de las crías de lobo marino.....	53
Figura 19. Posiciones satelitales de seis hembras de lobo marino de California durante sus viajes de alimentación.....	68
Figura 20. Principales zonas de forrajeo de las hembras de Los Islotes en abril de 2003.....	69
Figura 21. Dendrograma de clasificación de las 10 especies más importantes en la lobería de los Islotes de junio de 2000 a marzo de 2001.....	71
Figura 22. Análisis de componentes principales por individuos de acuerdo a las presas dominantes en su dieta.....	72
Figura 23. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ expresados en ‰ medidos en pelo de crías de lobo marino de la colonia de Los Islotes.....	74
Figura 24. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ DS en ‰) de los dos grupos de crías de lobo marino de la colonia de Los Islotes.....	75
Figura 25. Distribución de las asociaciones de larvas de peces en la Bahía de La Paz durante mayo (a) y julio (b) del 2001.....	76
Figura 26. Concentración de clorofila “a” y biomasa zooplanctónica en la Bahía de La Paz y zona oceánica adyacente durante mayo, julio y octubre del 2001 y febrero 2002.....	82

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Ácido graso. Molécula orgánica formada por una larga cadena hidrocarbonada en cuyo extremo hay un grupo carboxilo.

Ácido graso saturado. Ácido graso con la cadena hidrocarbonada repleta de hidrógenos, por lo tanto no tienen ningún enlace covalente doble en su estructura.

Ácido graso monoinsaturado. Ácido con un enlace covalente doble en su estructura.

Ácido graso poliinsaturado. Ácido con dos o más enlaces covalentes dobles en su estructura.

Ácidos grasos esenciales. Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y que los mamíferos superiores son incapaces de sintetizarlos.

Batidemersal. Que vive y se alimenta sobre el fondo a más de 200 m de profundidad.

BHT. Butil hidroxitolueno. Antioxidante sintético procedente de la industria petrolera.

Biosíntesis. Proceso donde se producen compuestos químicos desde reactivos simplificados. A diferencia de la síntesis química, la biosíntesis ocurre dentro de organismos vivos y es generalmente catalizada por enzimas.

Demersal. Que se hunde hasta ó vive sobre el fondo; que vive cerca del fondo y se alimenta de organismos bentónicos.

EDTA. Ácido etilendiaminotetraacético, se utiliza como anticoagulante.

Esterificación. Proceso por el cual se sintetiza un éster.

Fosfolípido. Lípidos iónicos, compuestos por un glicerol, al que se le unen dos ácidos grasos (1,2-diacilglicerol) y un grupo fosfato.

Isofluorano. Agente anestésico general inhalatorio y corresponde químicamente a un isómero del enfluorano. Es un líquido incoloro, con olor semejante al éter, muy potente, no irritante y de rápido efecto.

Isomerismo geométrico. Compuestos que tienen los mismos átomos y la conectividad de las uniones pero difieren en el arreglo espacial.

Isótopo. Átomo de un elemento químico que tiene el mismo número de protones, Z , pero distinto número másico, A , lo cual indica que el número de neutrones es diferente y característico para cada isótopo.

Lobería. Porción de playa o isla rocosa donde los lobos marinos, paren, crían y amamantan a sus crías.

Metabolismo. Conjunto de reacciones bioquímicas común en todos los seres vivos, que ocurren en las células, para la obtención e intercambio de materia y energía con el medio ambiente y síntesis de macromoléculas a partir de compuestos sencillos con el objetivo de mantener los procesos vitales (nutrición, crecimiento, relación y reproducción).

Metilación. Proceso químico para introducir un grupo metilo (CH_3) en un compuesto orgánico.

Pelágico. Que vive y se alimenta en mar abierto; asociado a la superficie ó profundidades medias de un cuerpo de agua.

Plasma. Fracción líquida de la sangre en la que están inmersos los elementos formes: eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Es el componente mayoritario de la sangre, representando aproximadamente el 55% del volumen sanguíneo total.

Saponificación. Proceso mediante el cual los triglicéridos reaccionan con una base para separar los ácidos grasos del glicerol.

Surgencia. Fenómeno oceanográfico que consiste en el movimiento vertical de las masas de agua, de niveles profundos hacia la superficie y que es inducido por la acción de los vientos que soplan paralelos a la costa.

Triglicérido. Lípidos formados por una molécula de glicerol, que tiene esterificada sus tres grupos hidroxilo, por tres ácidos grasos saturados o insaturados.

VLDL. Lipoproteínas de muy baja densidad. Son lipoproteínas precursoras compuestas por triacilglicéridos y ésteres de colesterol principalmente, son sintetizadas en el hígado y a nivel de los capilares de los tejidos extra hepáticos (adiposo, mama, cerebro, glándulas suprarrenales) son atacadas por la enzima Lipoprotein Lipasa la cuál libera a los triacilgliceroles, convirtiéndolos en ácidos grasos libres.

RESUMEN

El análisis de ácidos grasos (AG) es una técnica ampliamente utilizada en mamíferos marinos para estudiar la composición de la dieta así como sus variaciones estacionales, espaciales e individuales. Este trabajo consistió de tres etapas. Como primera parte se compararon los perfiles AG de plasma y grasa subcutánea de 11 parejas madre-cría muestreadas en seis loberas del Golfo de California con el objetivo de evaluar el grado de modificación al pasar de la madre a la cría. Los perfiles de AG del plasma fueron muy similares entre madres y crías por lo que se concluye que la composición de AG en el plasma de las crías podría ser un reflejo de la dieta de las hembras. La composición de AG de la grasa subcutánea fue diferente entre las categorías de edad pues no existe una transferencia directa de AG durante la lactancia. La segunda parte de este trabajo consistió en determinar la variabilidad de los perfiles de AG de plasma y grasa subcutánea en una muestra de 35 crías de Los Islotes con respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno. Para el plasma sólo se encontraron diferencias con respecto al tiempo relativo de ayuno. En la grasa subcutánea las diferencias fueron con respecto al peso, edad y tiempo relativo de ayuno, a pesar de esto la grasa subcutánea resulta ser un tejido más adecuado para describir la dieta a largo plazo, así mismo se detectó la formación de tres grupos de crías con relación a los perfiles de AG de la grasa subcutánea, cada uno de los cuales se atribuyó a una dieta distinta de las madres. Como tercera parte del estudio se exploró una posible variación individual en las estrategias alimentarias de los lobos de Los Islotes utilizando; marcaje satelital con el que se determinaron tres zonas de alimentación de las hembras alrededor de la colonia, análisis de isótopos estables que reveló al menos dos zonas de alimentación, análisis de excretas con el que se observaron cuatro dietas diferentes en un periodo de ocho meses y el análisis de AG que denota la existencia de tres dietas distintas, éstas cuatro aproximaciones en conjunto sugieren una diversificación de los hábitos alimentarios y repartición del nicho ecológico. Los resultados del estudio sugieren que el análisis de ácidos grasos es una herramienta útil para estudios de alimentación del lobo marino de California.

ABSTRACT

The analysis of fatty acids (FA) is a technique widely used in marine mammals to describe the principal preys in the diet and the spatial, temporal and individual variations. This work was carried out in three phases to proof the use of this approach in the California sea lion. For the first part the FA profiles of plasma and blubber of 11 mother-pup pairs captured in six different rookeries of the Gulf of California were compared to evaluate the degree of modification from mother to pup. The plasma FA profiles were very similar between females and their pups so we can say that this tissue could be a reflection of the mother's diet. The blubber FA profiles were different among the two categories due to there is not a direct FA transfer during lactation. In the second phase we explored the relationship between FA profiles in plasma and blubber of 35 California sea lion pups captured at Los Islotes rookery, and their sex, size, age and relative time of fasting. For the plasma differences were observed only with relative time of fasting. The blubber FA profiles were affected by size, age and relative time of fasting, however, the blubber would be more appropriate to infer the long term diet, in addition to this the blubber FA profiles revealed three groups of pups each one representing a different mother's diet. In the last part of this study we explore a possible individual variation in the foraging strategies of the sea lions from Los Islotes rookery using four different approaches. The satellite tags of six females reveal three main feeding areas, whereas at least two feeding areas were observed with stable isotopes analysis, a scat analysis comprising eight months of sampling suggest four different diets within the rookery and finally de FA analysis showed the formation of three different diets. This evidence point out that Los Islotes population presents a clear separation of alimentary niche. The results obtained in this work suggest that the FA analysis is a very useful technique to study the alimentary ecology of the California sea lion.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Lobo marino de California

El lobo marino de California *Zalophus californianus californianus* habita el área comprendida desde la Columbia Británica en Canadá hasta las Islas Marías pertenecientes a México y es el único pinnípedo que se reproduce en el Golfo de California (Aurioles-Gamboa y Zavala, 1994). La población del lobo marino de California en todo el Golfo se estimó entre 24,062 y 31,159 individuos en el año 2004 (Szteren y Aurioles-Gamboa, 2006).

En el Golfo de California la disponibilidad de los cardúmenes de peces pelágicos es uno de los factores que determinan la distribución de la población del lobo marino. La densidad poblacional más alta así como el mayor número de colonias de reproducción se concentran en el centro y norte del Golfo (Aurioles-Gamboa y Zavala, 1994), donde la sardina del Pacífico (*Sardinops sagax*) y el calamar jumbo (*Dosidicus gigas*) tienen sus mayores abundancias.

El ciclo de reproducción de *Z. californianus* es anual, las hembras paren una cría de finales de mayo a finales de junio con un máximo en los primeros días de junio (García-Aguilar y Aurioles-Gamboa, 2003a). El periodo de lactancia es de aproximadamente un año pero puede extenderse hasta por tres años (Newsome *et al.*, 2006) y durante éste, las madres alternan viajes de alimentación con periodos de cuidado de la cría en tierra. Al tiempo entre el parto y el primer viaje de alimentación se le denomina periodo perinatal el cuál tiene una duración aproximada de 4.3 días (García-Aguilar y Aurioles-Gamboa, 2003b) en los que la cría es amamantada intensamente.

El lobo marino de California es principalmente ictiófago y se considera un indicador potencial de la productividad marina local ya que es residente anual de estas áreas, es altamente visible, es un depredador de nivel alto y requiere grandes

biomasas de alimento para sostener sus poblaciones, además de mostrar preferencias alimentarias en cada región que habita (Aurioles *et al.*, 2000; García-Rodríguez y Aurioles-Gamboa, 2004; Porras-Peters, 2004).

Éste mamífero marino es clasificado como un especialista plástico ya que tiene preferencia por pocos recursos en un tiempo dado, pero su dieta varía temporalmente debido al cambio en abundancia de éstas presas en su área de alimentación (Lowry , 1991).

Es de gran relevancia conocer la dieta de los mamíferos marinos en vida libre para determinar y evaluar la relación depredador-presa dentro de los ecosistemas marinos (Iverson *et al.*, 1997), las posibles interacciones con pesquerías y analizar los cambios que se presentan en el tamaño de sus poblaciones en relación a modificaciones de la dieta.

Para entender el papel dentro de los ecosistemas de éstos organismos de metabolismo acelerado y alto consumo de alimento, es necesario el conocimiento de la dieta y su variación en el tiempo en distintas áreas de su distribución. Éstos estudios de alimentación nos proporcionan información adecuada para el manejo de los recursos y nos permiten conocer y comprender las relaciones tróficas entre las poblaciones (García-Rodríguez, 1995).

1.2 Métodos para estudiar la dieta en pinnípedos y el análisis de ácidos grasos

Para el estudio de la dieta en pinnípedos se han utilizado distintos métodos como el muestreo de contenidos estomacales de animales muertos o sacrificados, lavados estomacales y la identificación de partes duras en heces (Aurioles-Gamboa *et al.*, 1984; García-Rodríguez y Aurioles-Gamboa, 2004).

Sin embargo algunas partes duras de las presas pueden no ser consumidas por el depredador o ser erosionadas durante la digestión lo que dificulta su identificación. Por otra parte, las tasas diferenciales de digestión para las distintas presas pueden causar serios sesgos en la interpretación de los datos, por lo que los métodos anteriormente mencionados sólo proporcionan información de comidas recientes y no de una dieta a largo plazo (Iverson *et al.*, 2004).

Estudios de digestión *in vitro* demuestran que el desgaste que sufren las estructuras que se utilizan para identificar las especies presa (otolitos y picos de cefalópodos) puede afectar los resultados obtenidos a través del análisis de excretas, principalmente cuando se trata de especies que tienen otolitos pequeños ya que son los que sufren un mayor desgaste y una reducción de hasta el 90% de su longitud total (García-Maldonado, 1997). Esto puede tener como consecuencia la subestimación en la importancia relativa de algunas presas en la dieta del lobo marino.

Otra técnica empleada en estudios de dieta es el análisis de isótopos estables proporciona información sobre las preferencias alimenticias de los depredadores así como del nivel y la amplitud tróficos de las poblaciones, pero generalmente no permite determinar la identidad de las especies que componen la dieta (Porrás-Peters, 2004; Iverson *et al.*, 2004).

El análisis de ácidos grasos (AG) se ha propuesto como un método alternativo para el estudio de los hábitos alimentarios ya que se basa en la identificación del material consumido y asimilado a través del registro de éstos ácidos que cuando tienen una longitud de cadena de 14 carbonos ó más, se depositan casi sin ninguna modificación en el tejido de reserva animal (Iverson *et al.*, 1997).

Es posible distinguir entre los ácidos que provienen de la dieta y los que son de origen metabólico. Aunque el metabolismo del depredador ocasionará que la composición del tejido de la presa consumida no se refleje de manera exacta en sus

propios tejidos, los AG tienden a depositarse de una manera predecible y con pocas modificaciones en el tejido adiposo del depredador (Iverson *et al.* 2004).

Diversas investigaciones han demostrado que ésta técnica es muy útil para estudiar varios aspectos de la ecología alimenticia de los depredadores, ya que los perfiles de AG pueden indicar variabilidad espacial y temporal de la dieta (Smith *et al.*, 1996; Iverson *et al.*, 2001; Lea *et al.*, 2002) variaciones entre sexos (Beck *et al.*, 2005) y permiten la definición de áreas geográficas de alimentación (Salazar-Valenzuela, 2006).

Sin embargo el uso de los AG como indicadores de la alimentación en mamíferos marinos ha sido cuestionado debido a que algunos estudios sugieren que los diversos procesos metabólicos pueden dar como resultado una composición única de ácidos grasos en el tejido del depredador marcadamente diferente a la de sus presas (Grahl-Nielsen, *et al.*, 2000; Grahl-Nielsen *et al.*, 2003).

Es posible que las discrepancias en la utilidad de usar los AG como indicadores de las presas consumidas, se deba a que ésta aplicación pueda estar restringida a algunas condiciones que deben ser determinadas ó esclarecidas de manera específica. Por lo anterior ésta metodología debe ser probada para cada especie en particular y así determinar su utilidad para responder a las preguntas que se traten de resolver en cada caso.

1.3 Ácidos grasos

Los AG son en esencia los componentes mayoritarios de los lípidos (Iverson *et al.*, 1997), todos ellos poseen una cadena hidrocarbonada larga con un grupo carboxilo terminal. Cuando no se presenta ningún doble enlace en la cadena se les denomina ácidos grasos saturados (AGS), cuando presentan un doble enlace, monoinsaturados (AGMI) y cuando tienen dos ó más dobles enlaces se les llama poliinsaturados (AGPI) (Fig. 1).

Los AGPI se ordenan por familias basándose en el número de carbono en el cuál se encuentra el primer doble enlace contando del extremo metílico. Las familias más importantes son las n-3 y n-6 (conocidos coloquialmente como omega 3 y 6) que contienen a los ácidos grasos esenciales (AGE).

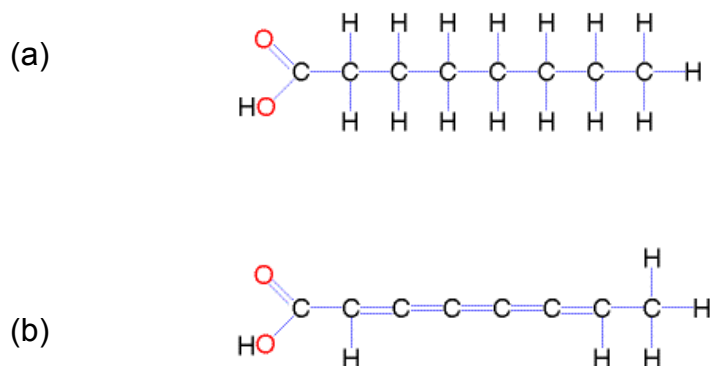


Figura 1. Ácido graso saturado(a) , ácido graso poliinsaturado (b)

Los AGE se caracterizan por tener un doble enlace dentro de los últimos siete carbonos de la cadena a partir del grupo metilo terminal. Los mamíferos superiores son incapaces de sintetizar éstos ácidos, por lo que necesitan disponer de los precursores de ambas familias, los ácidos Linoleico (18:2n6) y α -linolénico (18:3n-3).

Los ácidos Araquidónico (24:4n6), Eicosapentaenoico ó EPA (20:5n3) y Docosahexaenoico ó DHA (22:6n3) no son considerados estrictamente esenciales pero necesitan de un aporte extra ya que la velocidad de síntesis es muy baja en los mamíferos superiores además de que precisan de un aporte continuo de sus precursores.

Los AGE son usados para propósitos estructurales pues se encuentran incorporados a los fosfolípidos de las membranas celulares, participan también en procesos de oxidación para producir energía y en la síntesis de hormonas (Carreón, *et al.*, 2005).

Los ácidos grasos raramente se encuentran en estado libre en las células y tejidos, la mayoría de las veces se hallan esterificados con los tres grupos hidroxilo de la glicerina formando un triacilglicérido o triglicérido (Fig.2).

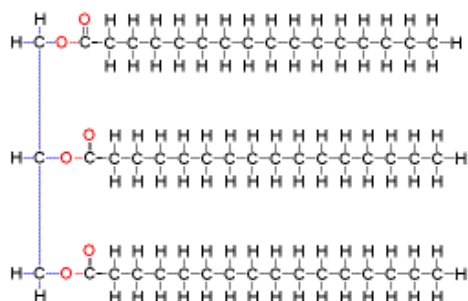


Figura 2. Triacilglicérido

Los triglicéridos constituyen la familia más abundante de los lípidos y son los principales componentes de las grasas de depósito o de reserva de las células animales y vegetales (Lehninger, 1980).

Existen diferentes formas de nombrar a los AG, la que se utilizó primeramente fue la de los nombres comunes ó triviales que reflejan la fuente de la cual se aisló el ácido graso por primera vez, por ejemplo el ácido palmítico debe su nombre a que fue extraído del aceite de la palma (Ackman, 1989).

Este sistema es muy ambiguo y puede prestarse a confusiones pues en el nombre no se especifica la estructura química de los ácidos. Por esta razón en 1960 la Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada (IUPAC) y la Unión Internacional de Bioquímica (IBU) crearon dos comités de nomenclatura y establecieron la nomenclatura sistemática actual (Lobb, 1992).

De acuerdo con las estrictas normas de la nomenclatura sistemática los AG deben nombrarse basándose en el número de átomos de carbono y el número y posición de los enlaces insaturados en relación al grupo carboxilo. También se

identifican los grupos sustituyentes y su posición, así como la actividad óptica y configuración geométrica de los dobles enlaces (Lobb, 1992).

Por último la forma más corta que se utiliza para nombrar a los AG es la notación taquigráfica A:BnC; donde A se refiere el número total de carbonos de la cadena, B al número de dobles enlaces y C al número de carbono en el cuál se encuentra el primer doble enlace contando desde el grupo metílico terminal (Ackman, 1989).

Los ácidos grasos insaturados (AGI) pueden presentar isomerismo geométrico, esto es que los dobles enlaces pueden ser de configuración cis o trans. En la forma cis los dos hidrógenos sustituyentes se encuentran en el mismo lado de la molécula, mientras que en la configuración trans están en lados opuestos (Fig.3).

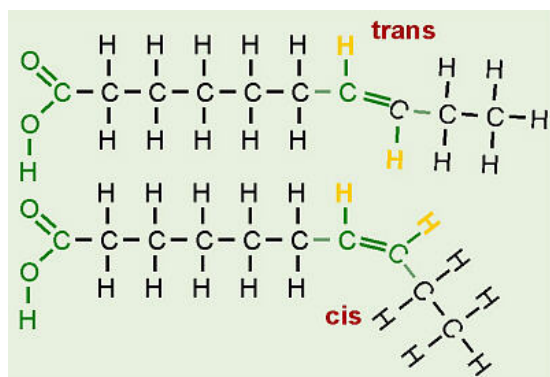


Figura 3. Ácido graso con configuración trans y cis.

Cuando se conoce la configuración geométrica de los dobles enlaces, ésta puede ser agregada a la notación taquigráfica (Gurr y Harold, 1991). Si el primer doble enlace a partir del grupo metílico es de configuración cis se añade una letra “c” minúscula al final y cuando es configuración trans se representa con una letra “t”.

De esta manera el ácido graso 18:2n6c tiene una longitud de cadena de 18 carbonos con dos dobles enlaces y el primero de éstos se encuentra en el carbono número seis contando desde el grupo metílico terminal y es de configuración cis.

Debido a que la notación taquigráfica se utiliza en la gran mayoría de los trabajos de investigación de AG y a la practicidad que representa para nombrarlos será la que se emplee a lo largo de este trabajo.

II. ANTECEDENTES

Existen numerosos estudios AG en pinnípedos, particularmente en fócidos, sin embargo en el lobo marino de California se han realizado sólo tres.

El primer estudio es un trabajo de Iverson (1993) donde se ejemplifica que la composición de AG de la leche puede ser un buen reflejo de la dieta. Este estudio se llevó a cabo en las Islas del Canal en California, se comparó el perfil de AG de la leche de *Z. californianus* del periodo perinatal con el de la leche secretada durante los intervalos de los viajes de forrajeo. Se observó que la composición entre ambas leches es muy distinta y que los AG de la leche secretada por las hembras durante los intervalos de forrajeo reflejaban los ácidos grasos de las principales presas. También se determinó la composición de AG de la leche de una hembra de lobo marino de California en cautiverio que fue alimentada únicamente con arenque del Atlántico (*Clupea harengus*) y el perfil fue drásticamente distinto al de los animales en vida libre por lo que se sugiere que los cambios en la dieta conllevan a cambios en los perfiles de AG de la leche.

El segundo estudio fue realizado por Castro-González (2002) en la lobería de Los Islotes en el Golfo de California, donde se determinó la composición de AG del plasma de 35 crías. Se identificaron y cuantificaron hasta 29 AG donde la mayor concentración se registró en los AGPI, tanto para machos como para hembras, pero no se observaron diferencias significativas entre grupos. Por otro lado las hembras presentaron una mayor concentración de AGS que los machos y se sugiere que las crías hembras pueden tener una mayor absorción de ácidos grasos n-6 que los machos.

El tercer estudio fue realizado por Salazar-Valenzuela (2006) donde se utilizó el perfil de AG de plasma y grasa subcutánea de crías de lobo marino de siete colonias reproductivas del Golfo de California para probar la utilidad de los AG en definir patrones espaciales de alimentación. Los perfiles de AG de la grasa subcutánea presentaron un patrón espacial coherente definiendo cinco grupos de colonias; uno al sur del Golfo de California, otro al centro-sur, centro-oeste, centro-norte y el Golfo occidental, éste patrón fue consistente con estudios previos basados en análisis de excretas e isótopos.

III. JUSTIFICACIÓN

La dieta en mamíferos marinos sigue siendo un tema difícil de abordar en términos logísticos y por ello se continúa la búsqueda de nuevas aproximaciones que complementen métodos ya existentes y que permitan un mejor entendimiento de la ecología alimentaria de las especies.

Hasta el momento el análisis de AG en la población de *Zalophus californianus* del Golfo de California se ha utilizado para describir y comparar la composición de AG del plasma entre sexos y para definir patrones espaciales de alimentación. Sin embargo ésta técnica puede proporcionarnos información valiosa acerca de la dieta a corto y largo plazo así como de los hábitos alimentarios sin las desventajas de las metodologías tradicionales.

Por lo anterior es de gran relevancia un estudio que explore más a fondo el uso y aplicación de los perfiles de AG en este tipo de preguntas ecológicas, así como todos los factores que pueden causar sesgos o errores en la interpretación de los resultados. El presente trabajo pretende marcar las pautas para utilizar la técnica de AG en estudios de alimentación del lobo marino de California residente en el Golfo.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar los perfiles de ácidos grasos del lobo marino de California *Zalophus californianus* para su aplicación en estudios de alimentación.

4.2 Objetivos particulares

- 1.- Comparar los perfiles de AG de plasma y grasa subcutánea de 11 parejas madre-cría muestreadas en seis loberías del Golfo de California.
- 2.- Determinar la variabilidad en los perfiles de AG de plasma y grasa subcutánea con relación al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno de 35 crías de la colonia reproductora Los Islotes.
- 3.- Determinar el potencial de la composición de los AG en crías de lobo marino para la identificación de dietas dentro de la población.

CAPÍTULO I

COMPARACIÓN DE PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS DE PLASMA Y GRASA SUBCUTÁNEA ENTRE MADRES Y CRÍAS DE LOBO MARINO

I. INTRODUCCIÓN

Estudiar los hábitos alimentarios de los pinnípedos de vida libre por medio de la técnica de AG puede convertirse en una tarea complicada sobre todo en especies donde los animales adultos son muy grandes.

Las hembras del lobo marino de California pesan en promedio 110 kg y los machos adultos llegan a pesar hasta 390 kg (Odell, 1981) por lo que capturar y muestrear un animal de éstas características implica una gran inversión de tiempo y esfuerzo, lo que repercute en tamaños de muestra pequeños y poco representativos de la población.

Otras aproximaciones como el análisis de isótopos estables (Porrás-Peters, 2004) han demostrado que las crías pueden ser buenos monitores de la dieta de las hembras. Debido a que la transferencia de los AG de las madres a sus crías durante la lactancia es muy directa (Iverson, 1993) es posible que los perfiles de AG de las crías reflejen la dieta de sus madres.

En este capítulo se comparan los perfiles de AG del plasma y grasa subcutánea de parejas madre-cría de lobo marino de California con la finalidad de evaluar si estos perfiles son lo suficientemente parecidos como para poder inferir la dieta de las hembras a partir de los tejidos de sus crías, lo cual representaría una gran ventaja metodológica.

II. METODOLOGÍA

Para tratar de responder a la pregunta anteriormente planteada se capturaron 11 parejas madre-cría en seis loberías distintas del Golfo de California a las cuales se les muestreó sangre y grasa subcutánea respectivamente.

2.1 Área de estudio

El Golfo de California está situado en la región noroccidental de México, entre los 31°53' -20°27' latitud norte y los 114°54' - 105°38' longitud oeste, está delimitado por la Península de Baja California al oeste y los estados de Sonora y Sinaloa al este. Sus dimensiones son aproximadamente 1000 km de largo y 150 km de ancho en promedio (Álvarez-Borrego, 1983).

Las Islas Ángel de la Guarda y Tiburón dividen claramente al Golfo de California en dos partes, la parte alta ó alto Golfo y la parte baja. El límite sur del Golfo de California se considera como la línea que conecta Cabo San Lucas con Mazatlán, Sinaloa (Walker, 1960).

El clima del Golfo de California es mucho más continental que oceánico y la temperatura superficial del mar va de 14 a 21°C en invierno y de 28 a 31°C en verano (Roden, 1964; Álvarez-Borrego, 1983). El golfo es un área subtropical con una productividad primaria extremadamente elevada, debido a los fenómenos de surgencia que se presentan en la costa Este durante el invierno y en la costa Oeste durante el verano y la mezcla de marea principalmente en la región central donde éste mar se angosta (Álvarez-Borrego, 1983). Por esta razón el Golfo de California aloja grandes poblaciones de peces así como numerosas especies de mamíferos marinos.

Existen un total de 29 colonias de lobo marino en el Golfo pero sólo 13 son reproductivas (Fig. 5) (Aurioles y Zavala, 1994).

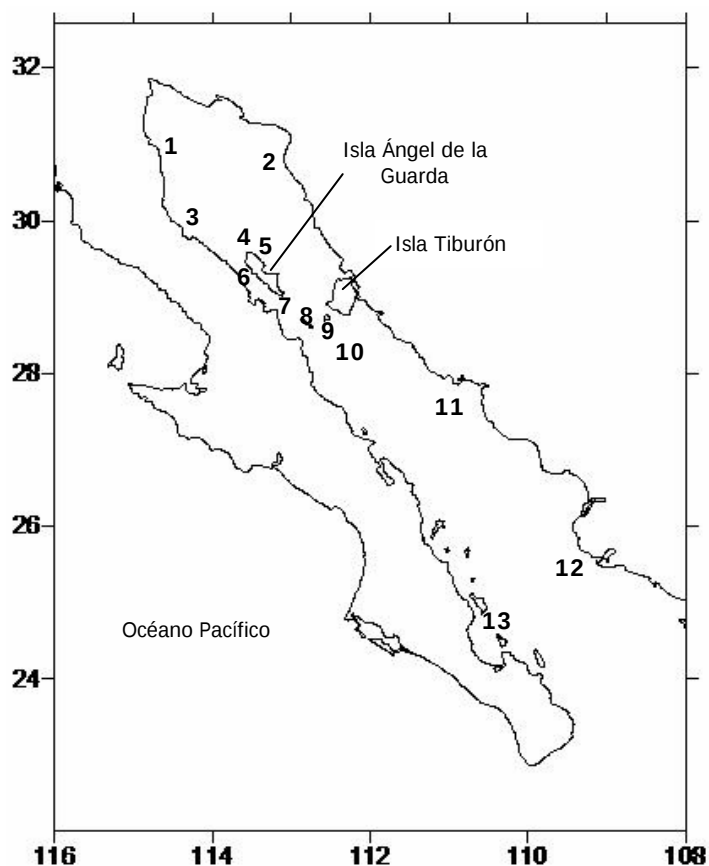


Figura 5. Colonias reproductivas (loberías) del lobo marino de California en el Golfo de California ordenadas de norte a sur: 1. Rocas Consag; 2. San Jorge; 3. Isla Lobos; 4. Isla Granito; 5. Los Cantiles; 6. Los Machos; 7. El Partido; 8. El Rasito; 9. San Esteban, 10. San Pedro Mártir; 11. San Pedro Nolasco; 12. Farallón de San Ignacio; 13. Los Islotes.

2.2 Muestreo

La colecta de grasa subcutánea y plasma de las parejas madre-cría se realizó en el mes de julio del año 2004 en un crucero a bordo del barco “El Amigo”. Durante este crucero se visitaron nueve colonias reproductoras; Los Islotes, San Esteban, Granito, Partido, Rasito, San Jorge, Isla Lobos, Cantiles y Los Machos. Debido a que algunas de éstas colonias son muy pequeñas y poco accesibles para el equipo de anestesia únicamente se capturaron animales en seis colonias, haciendo un total de 11 parejas de madre-cría.

En la siguiente tabla (Tabla 1) se pueden observar las colonias reproductoras muestreadas y el número de parejas madre-cría que se capturó en cada una de ellas.

Tabla 1. Número de parejas madre-cría muestreadas en cada colonia reproductora.

Lobería	No. Parejas madre-cría
Los Islotes	2
San Esteban	3
Granito	2
San Jorge	2
Isla Lobos	1
Cantiles	1

Como primer paso se realizaron observaciones a bordo de una lancha con ayuda de binoculares. Una vez que se identificaban las hembras con sus crías se procedía a capturarlas al mismo tiempo con una red diseñada para la captura de lobos marinos. Ya que se tenía capturada la pareja se les aplicó anestesia inhalada con gas isoflurano (Parás *et al.*, 2002) manteniendo el registro de los signos vitales y la temperatura cada cinco minutos. Una vez que los signos vitales eran constantes, a las madres se les tomaban las medidas de longitud estándar y perímetro axilar utilizando una cinta métrica y se pesaban utilizando un dinamómetro y un tripié. A las crías únicamente se les tomó la medida de longitud estándar y se pesaron.

Las muestras de sangre fueron tomadas de la vena yugular en ambos casos con el sistema Vacutainer, utilizando tubos de ensayo que contienen EDTA, el cual funciona como anticoagulante, para posteriormente colocarlos en una hielera. Una vez en el barco, se centrifugaron a 3500 rpm durante 15 min, se separó el plasma con pipetas Pasteur, se le agregó antioxidante, Butil Hidroxi Tolueno (BHT) al 0.01%, y se guardó en crioviales para su congelación (Castro-González *et al.* 2003).

Las muestras de plasma se analizaron en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán en la Ciudad de México (INCMNSZ), empleando la técnica descrita por Castro-González *et al* (2003), que consta de: determinación de lípidos totales, saponificación, metilación, identificación y cuantificación de AG por cromatografía de gases con detector de ionización de flama.

Las muestras de grasa fueron extraídas por liposucción con una jeringa en la región del esternón y se les agregó BHT al 0.01%. A éstas muestras se les cuantificaron los lípidos totales y se les realizó una saponificación y metilación de acuerdo a la técnica desarrollada en el INCMNSZ y que es resultado de algunas modificaciones a las técnicas de Folch, Bligh y Dyer, Morrison y Smith y AOAC (Castro-González, com. pers.¹) Las marchas químicas se muestran con detalle en el Apéndice I.

2.3 Análisis de datos

Debido a que el tamaño de muestra es reducido no fue posible evaluar el perfil de AG de las parejas madre-cría por colonia muestreada por lo que se realizó un análisis de Kruskal-Wallis utilizando el programa Statistica 7.0 (StatSoft 2004), para determinar diferencias significativas entre los perfiles de AG de las diferentes colonias. Como no se observó diferencia significativa para ningún ácido graso en ningún caso ($p < 0.5$), se decidió hacer un juego de datos de todas las parejas madre-cría para aumentar el tamaño de muestra.

Los valores de concentración de AG se presentaron en mg/100ml de plasma y en mg/100g de grasa respectivamente. La cantidad de cada ácido graso fue expresada como porcentaje del total de AG presentes en la muestra utilizando dos criterios; aquellos AG con un porcentaje mayor al 1% y todos los AG que son indicadores de dieta aún cuando fueran menores al 1% (Iverson *et al.* 2004).

¹ Castro-González, M., I. 2006. Departamento de Nutrición Animal. Instituto Nacional de Nutrición y Ciencias Médicas Salvador Zubirán. Vasco de Quiroga 15, Colonia Sección XVI, Tlalpan C.P. 14000, México D.F., MEXICO.

Se realizó un análisis exploratorio de componentes principales utilizando matriz de correlación, así como un análisis de clasificación de cluster utilizando el índice de afinidad de Ward y la distancia de Bray-Curtis. El índice de Ward utiliza un análisis de cercanía de varianzas para evaluar las distancias entre los clusters por lo que en general es más eficiente y proporciona resultados más robustos (Statistica 7.0 manual electrónico) y la distancia de Bray-Curtis es una de las más apropiadas para el análisis multivariado de datos ecológicos, pues arroja resultados más reales (Beals, 1984). El nivel de corte de los dendrogramas se definió de manera que se observara una agrupación por loberías ó de las madres con sus crías, de no ser así, se basó en un criterio que generara las agrupaciones mayores ó más generales, en lugar de la obtención de varios grupos menores ó pequeños. Por último se realizó un análisis discriminante para definir si existen diferencias significativas entre los grupos encontrados.

La finalidad de estos análisis fue explorar la existencia de algún tipo de agrupación o asociación entre los individuos de las diferentes loberías y determinar si los perfiles de AG de las hembras eran semejantes a los de sus crías.

Para realizar la comparación de perfiles de AG de plasma y grasa subcutánea entre madres y crías se utilizó una prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney para cada ácido graso, así como por grupos de AG, es decir saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poliinsaturados (AGPI) y por familias n-3 y n-6. Adicionalmente se calculó el valor de la relación $n6/n3$, ésta relación es muy utilizada en nutrición humana y en éste caso nos puede dar una idea de la cantidad de AG de cada familia que son consumidos por las madres, así como la manera en que éstos ácidos son absorbidos por las crías (Castro-González, 2002). Los análisis anteriores se llevaron a cabo con los programas Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., 2004) y Community Analysis Package (CAP) 1.52 (Henderson y Seaby, 1999).

III. RESULTADOS

3.1 Plasma

Se identificaron y cuantificaron 28 AG para el plasma, sin embargo siguiendo el criterio de selección mencionado, se trabajó con un total de 20 AG. Los AG 20:2n6, 20:3n6 y 20:4n6 no se incluyeron en el análisis a pesar de ser indicadores de dieta, pues únicamente estaban presentes en concentraciones muy pequeñas en una cría de Los Islotes por lo que se eliminó del análisis. En la Tabla 2, se muestran las concentraciones promedio de los 20 AG seleccionados. Las concentraciones promedio de los 28 AG identificados y cuantificados se muestran en el Apéndice II.

Como se puede observar el ácido graso 16:0 (palmítico) fue el más abundante tanto para hembras como sus crías. Por otra parte el ácido 20:1n9 presentó la menor concentración en el caso de las hembras y no se detectó en las crías.

Es importante mencionar la presencia de un AG de configuración trans 18:1n9t (elaídico) que se encontró en concentraciones de 3.5% para las hembras y 1.5% para las crías.

Todos los AG esenciales de la familia n-3 fueron detectados en el plasma; 18:3n3 (α -linolénico), 22:6n3 (DHA) y 20:5n3 (EPA), sin embargo éste último fue el único que se encontró en concentraciones mayores al 1% siendo más abundante en las madres.

Por el contrario sólo se detectó uno de los dos AG esenciales pertenecientes a la familia n-6, el 18:2n6c (linoleico), con concentraciones mayores al 1% en las madres y alrededor de 1% en las crías.

En cuanto a los grupos de AG, los AGS representaron más del 50% de la composición del plasma y los AGMI y AGPI contribuyeron en alrededor del 25% a la

composición total del plasma. Por su parte los AG n-6 tuvieron casi el doble de concentración que los n-3, lo que se ve reflejado en la razón n6/n3 que fue 1.9 para hembras y 2.1 para las crías.

Tabla 2. Concentraciones promedio de AG expresadas en porcentaje con respecto al total de AG $\pm$ error estándar en plasma de hembras y crías de lobo marino de California.

Ácido Graso	Hembras	Crías
13:0	1.12 $\pm$ 0.42	2.38 $\pm$ 1.04
14:0	0.84 $\pm$ 0.36	0.22 $\pm$ 0.14
15:0	1.83 $\pm$ 0.42	1.25 $\pm$ 0.55
16:0	34.06 $\pm$ 4.78	35.31 $\pm$ 2.72
16:1n7	13.65 $\pm$ 1.66	11.18 $\pm$ 1.51
17:1n7	2.74 $\pm$ 1.18	2.15 $\pm$ 0.79
18:0	0.35 $\pm$ 0.18	0.63 $\pm$ 0.45
18:1n9t	3.40 $\pm$ 1.47	1.54 $\pm$ 0.53
18:1n9c	1.10 $\pm$ 0.53	2.97 $\pm$ 1.36
18:2n6c	1.18 $\pm$ 0.43	0.94 $\pm$ 0.44
18:3n6	10.27 $\pm$ 3.15	7.64 $\pm$ 1.81
18:3n3	0.26 $\pm$ 0.14	0.18 $\pm$ 0.09
20:0	4.99 $\pm$ 1.75	5.57 $\pm$ 1.23
20:1n9	0.04 $\pm$ 0.04	0.56 $\pm$ 0.52
20:3n3	2.40 $\pm$ 1.24	1.83 $\pm$ 0.62
22:0	11.96 $\pm$ 2.84	18.02 $\pm$ 3.32
22:1n9	0.31 $\pm$ 0.24	0.00 $\pm$ 0.00
20:5n3	4.17 $\pm$ 1.86	1.93 $\pm$ 1.35
22:2n6	1.90 $\pm$ 0.83	1.40 $\pm$ 0.73
22:6n3	0.35 $\pm$ 0.26	0.86 $\pm$ 0.41
Σ AGS	55.14 $\pm$ 4.68	63.37 $\pm$ 3.40
Σ AGMI	21.23 $\pm$ 1.42	18.40 $\pm$ 1.89
Σ AGPI	20.54 $\pm$ 4.78	14.78 $\pm$ 2.05
Σ n3	7.18 $\pm$ 0.93	4.79 $\pm$ 0.41
Σ n6	13.35 $\pm$ 2.91	9.98 $\pm$ 2.16
n6/n3	1.9	2.1

En los análisis exploratorios de componentes principales y de clasificación se eliminó una hembra de San Jorge cuyos datos provocaban que todos los demás individuos se compactaran.

De acuerdo al perfil de AG del plasma podemos observar la formación de dos grupos (Fig. 6). Cada grupo se encuentra integrado por tres colonias reproductoras; en el primero se agrupan los individuos de San Esteban, Isla Lobos y Cantiles así como una hembra perteneciente a Los Islotes. En el segundo se encuentran las madres y crías pertenecientes a Granito, Islotes y San Jorge, además de una cría de la loba San Esteban.

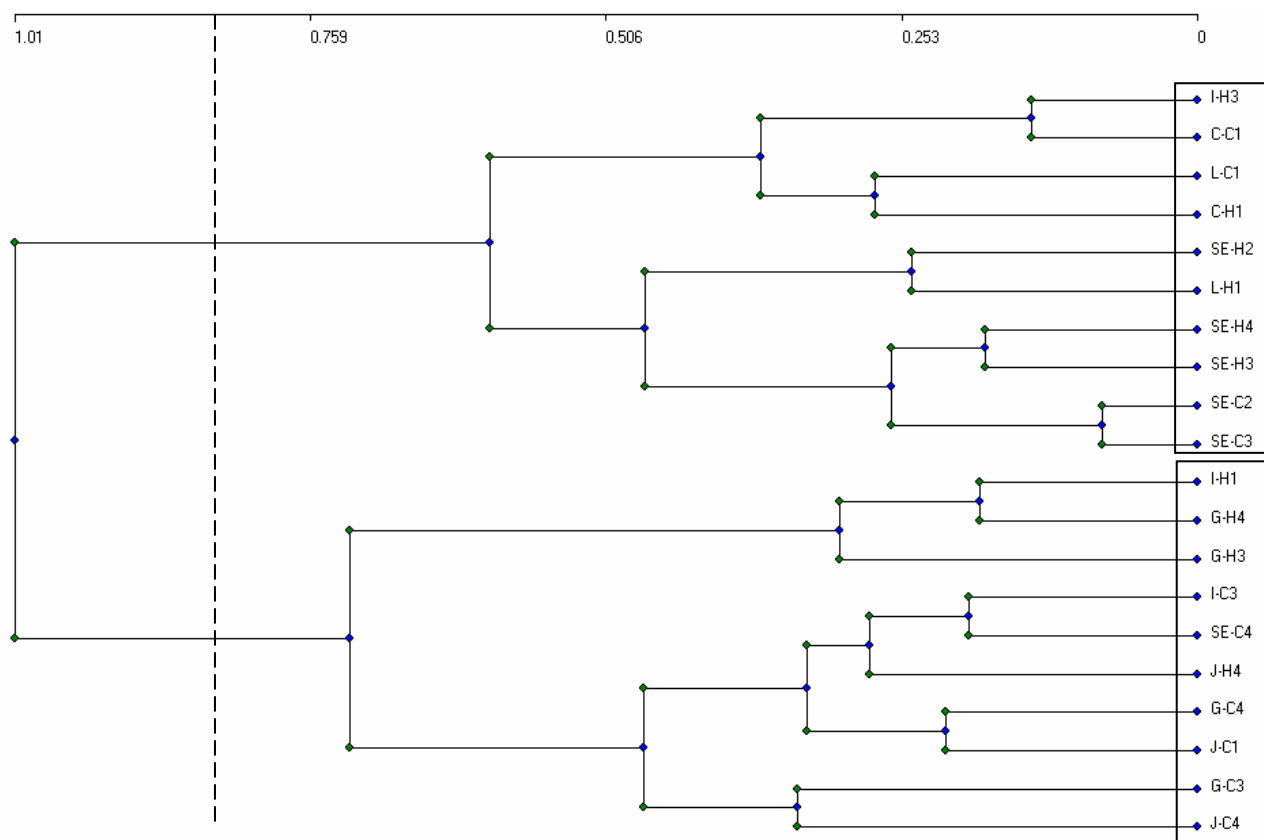


Figura 6. Dendrograma de clasificación de muestras de plasma. (I) Islotes, (SE) San Esteban, (G) Granito, (J) San Jorge, (L) Isla Lobos, (C) Cantiles. Después del guión (H) Hembra, (C) Cría y los números corresponden al número de pareja muestreada. La línea punteada representa el nivel de corte para la formación de los grupos.

La distribución espacial de estos grupos puede observarse en la gráfica de componentes principales (Fig. 7). La varianza explicada por los tres primeros factores es del 52.21%. Los AG que contribuyen más a la separación de los grupos fueron el 14:0 y el 17:1n7 para el factor uno y el 18:2n6c para el factor dos, en el caso del factor tres no hay ningún ácido graso que contribuya de manera significativa a la separación. A excepción de la cría número cuatro de San Esteban y la hembra número tres de Los Islotes, el resto de los animales se agruparon con los de su misma colonia y a su vez se asociaron con otras dos loberas. Sin embargo al aplicar un análisis discriminante la separación entre ambos grupos no fue significativa (Lambda de Wilks = 0.01028, $p < 0.0841$) lo cual nos indica que el resultado no es muy robusto.

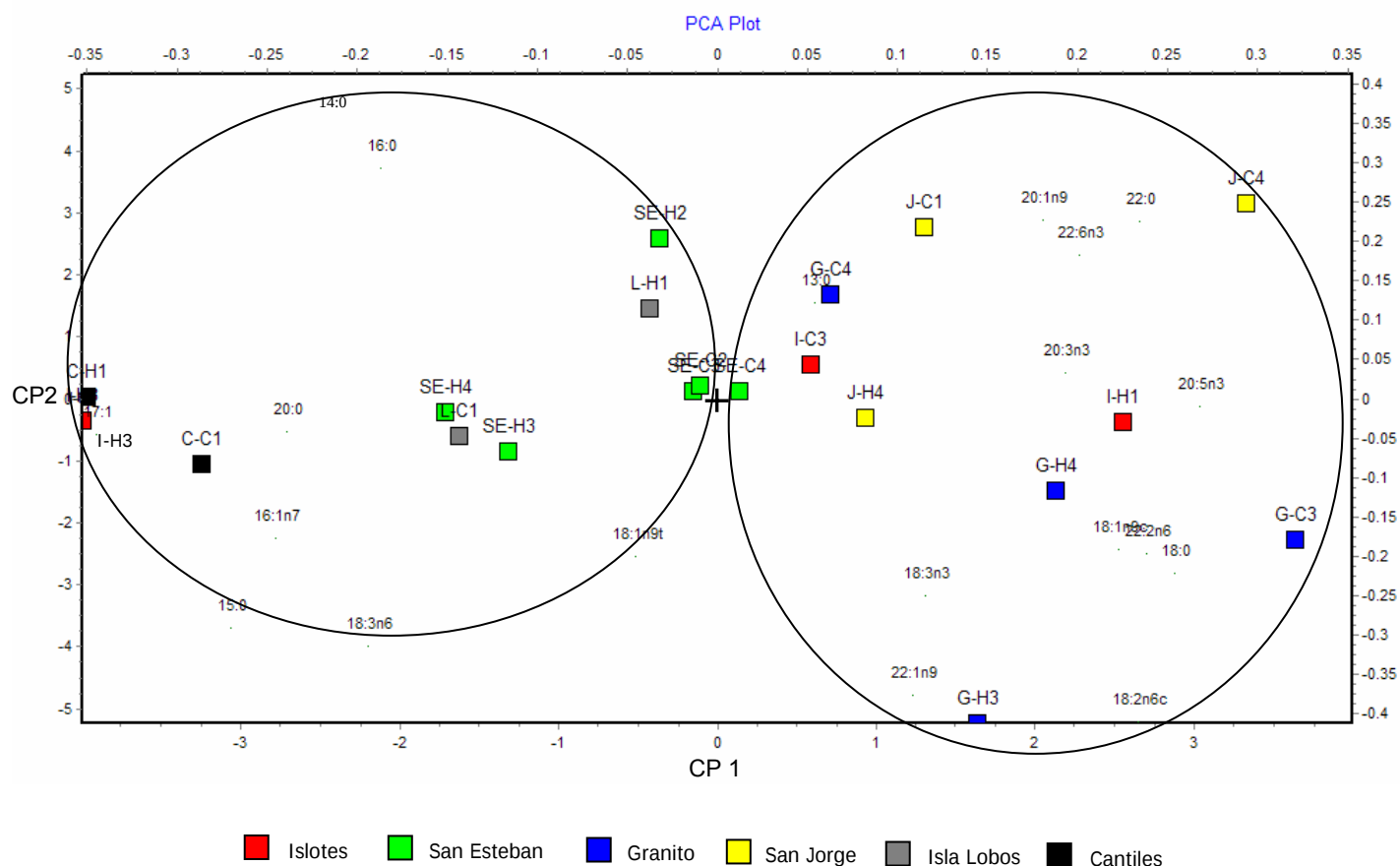


Figura 7. Gráfica de componentes principales de las muestras de plasma. (I) Islotes, (SE) San Esteban, (G) Granito, (J) San Jorge, (L) Isla Lobos, (C) Cantiles. Después del guión (H) Hembra, (C) Cría y los números corresponden al número de pareja muestreada. La cruz marca el origen. Los óvalos representan los grupos formados en el análisis de clasificación.

Si observamos la misma gráfica en tres dimensiones pero sin tomar en cuenta la lobera a la cuál pertenecen los organismos y únicamente distinguiendo entre madres y crías (Fig. 8) podemos notar que no existe una diferenciación clara entre unas y otras. Esta idea puede reforzarse con la ausencia de diferencias significativas de la prueba de U de Mann-Whitney ($p > 0.05$) para todos los AG así como para el total de AGS, AGMI, AGPI y las familias n-3 y n-6.

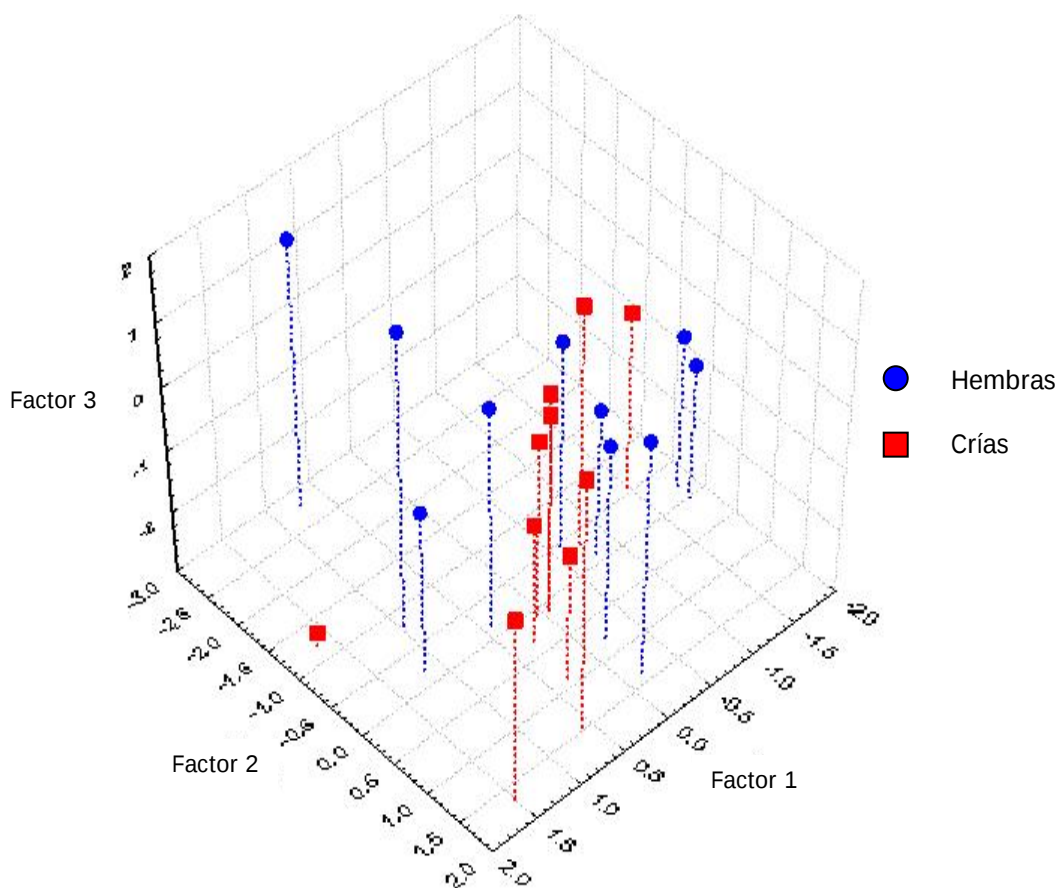


Figura 8. Gráfica 3D de componentes principales de los AG en muestras de plasma de madres y crías de lobo marino.

3.2 Grasa subcutánea

Se identificaron y cuantificaron 32 AG en la grasa subcutánea de los cuales se seleccionaron 18 con el mismo criterio aplicado a los AG en plasma (Tabla 3.). Las

concentraciones promedio de los 32 AG identificados y cuantificados se muestran en el Apéndice II.

Como podemos observar el AG 18:1n9c (oleico) fue el más abundante tanto para madres como crías con valores mayores al 20%, seguido del 22:6n3 para las madres y el 16:0 para las crías. Los AG que se encontraron en menor porcentaje fueron el 13:3n6 para las crías y el 22:1n9 para las hembras.

Todos los AG esenciales de la familia n-6 (20:4n6, 18:2n6) así como los ácidos 20:5n3 y 22:6n3 de la familia n-3 presentaron concentraciones por encima del 1% con excepción del 18:3n3 con menos del 0.8 % en ambos casos.

Pasando a los grupos de AG podemos observar que los AGMI fueron los más abundantes al presentar un porcentaje mayor al 40% de la composición total de la grasa subcutánea, mientras que los AG n-3 se encontraron en cantidades mucho mayores que los n-6, por lo que la relación n6/n3 disminuyó comparativamente con la del plasma. El total de AGS (U= 23.0, p=0.0128) así como los AG 16:0 (U=25.0, p= 0.0192) y 20:2n6 (U= 16.0, p=0.0024) fueron significativamente más abundantes en las crías. Los AG 24:1 (U=27.0, p= 0.0280) y 22:6n3 (U= 30.0, p= 0.0473) fueron significativamente mayores en las hembras.

Por otra parte los análisis exploratorios de clasificación y ordenación no indicaron ningún patrón ó asociación coherente que permita diferenciar a los individuos de acuerdo a su colonia de origen.

En el análisis de cluster (Fig. 9) podemos observar la formación de tres grupos; el primero de abajo hacia arriba, está constituido por una cría de Los Islotes y una hembra de Cantiles, el segundo está integrado por una hembra y una cría de San Esteban y una cría de las colonias Granito, San Jorge e Islotes respectivamente, los individuos restantes se unen para formar el tercer grupo. Al aplicar el análisis

discriminante la separación resultó significativa (Lambda de Wilks = 0.00044, $p < 0.0006$).

Tabla 3. Concentraciones promedio de AG expresadas en porcentaje con respecto al total de AG $\pm$ error estándar en grasa subcutánea de hembras y crías de lobo marino de California. Los asteriscos indican diferencias significativas (U Mann-Whitney $p < 0.05$).

Ácido Graso	Hembras	Crías
14:0	3.40 $\pm$ 0.35	3.20 $\pm$ 0.41
16:0*	12.64 $\pm$ 1.15	17.45 $\pm$ 1.50
16:1n7	9.91 $\pm$ 0.89	11.38 $\pm$ 1.65
18:0	2.45 $\pm$ 0.42	2.55 $\pm$ 0.35
18:1n9c	28.04 $\pm$ 2.36	26.11 $\pm$ 2.03
18:2n6c	1.57 $\pm$ 0.09	1.63 $\pm$ 0.25
18:3n6	0.24 $\pm$ 0.08	0.13 $\pm$ 0.03
18:3n3	0.78 $\pm$ 0.09	0.66 $\pm$ 0.11
20:1n9	1.50 $\pm$ 0.16	1.11 $\pm$ 0.18
20:2n6*	0.32 $\pm$ 0.01	0.60 $\pm$ 0.09
20:3n3	0.26 $\pm$ 0.12	0.35 $\pm$ 0.10
20:3n6	0.38 $\pm$ 0.12	0.26 $\pm$ 0.06
20:4n6	2.78 $\pm$ 0.25	2.75 $\pm$ 0.24
20:5n3	4.27 $\pm$ 0.38	3.72 $\pm$ 0.60
22:1n9	0.17 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.04
22:2n6	0.16 $\pm$ 0.10	0.16 $\pm$ 0.06
24:1*	6.18 $\pm$ 0.40	4.54 $\pm$ 0.60
22:6n3*	19.10 $\pm$ 3.80	13.87 $\pm$ 4.05
Σ AGS*	18.49 $\pm$ 1.63	23.20 $\pm$ 1.69
Σ AGMI	45.80 $\pm$ 2.94	43.29 $\pm$ 2.95
Σ AGPI	29.85 $\pm$ 3.59	24.14 $\pm$ 3.75
Σ n3	24.40 $\pm$ 4.42	18.61 $\pm$ 3.17
Σ n6	5.45 $\pm$ 0.43	5.53 $\pm$ 0.43
n6/n3	0.22	0.30

De igual manera la gráfica de componentes principales (Fig.10) no mostró un ordenamiento espacial claro debido a que la mayoría de los animales se encuentran mezclados en el centro de ésta. La varianza explicada por los primeros tres componentes es del 66.4% y los AG que contribuyen significativamente a la separación son para el factor uno; 18:3n3, 20:1n9, 20:3n3, 20:4n6 y 24:1, para el factor dos el 14:0 y para el factor tres el 20:3n3.

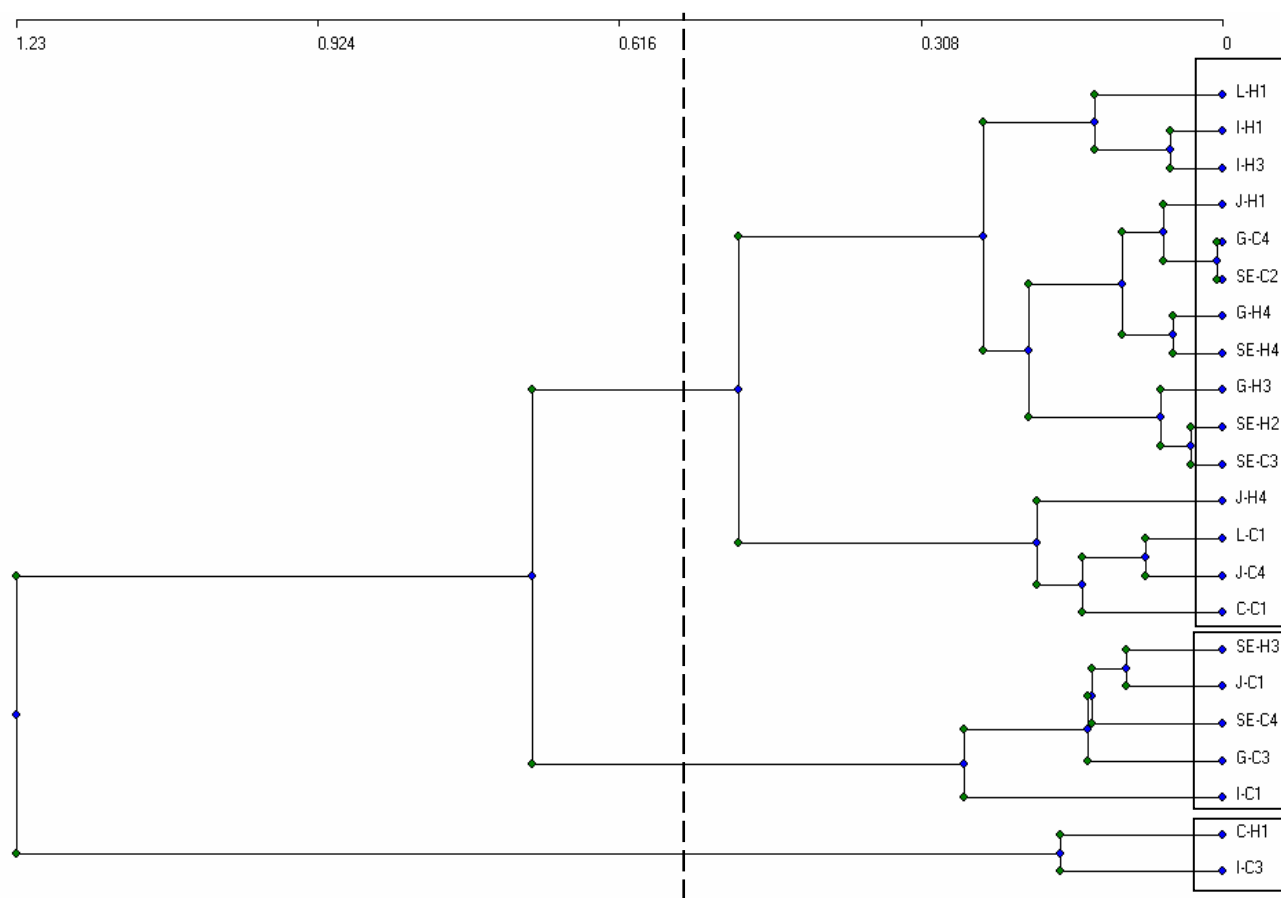


Figura 9. Dendrograma de clasificación de muestras de grasa. (I) Islotes, (SE) San Esteban, (G) Granito, (J) San Jorge, (L) Isla Lobos, (C) Cantiles. Después del guión (H) Hembra, (C) Cría y los números corresponden al número de pareja muestreada. La línea punteada representa el nivel de corte para la formación de los grupos.

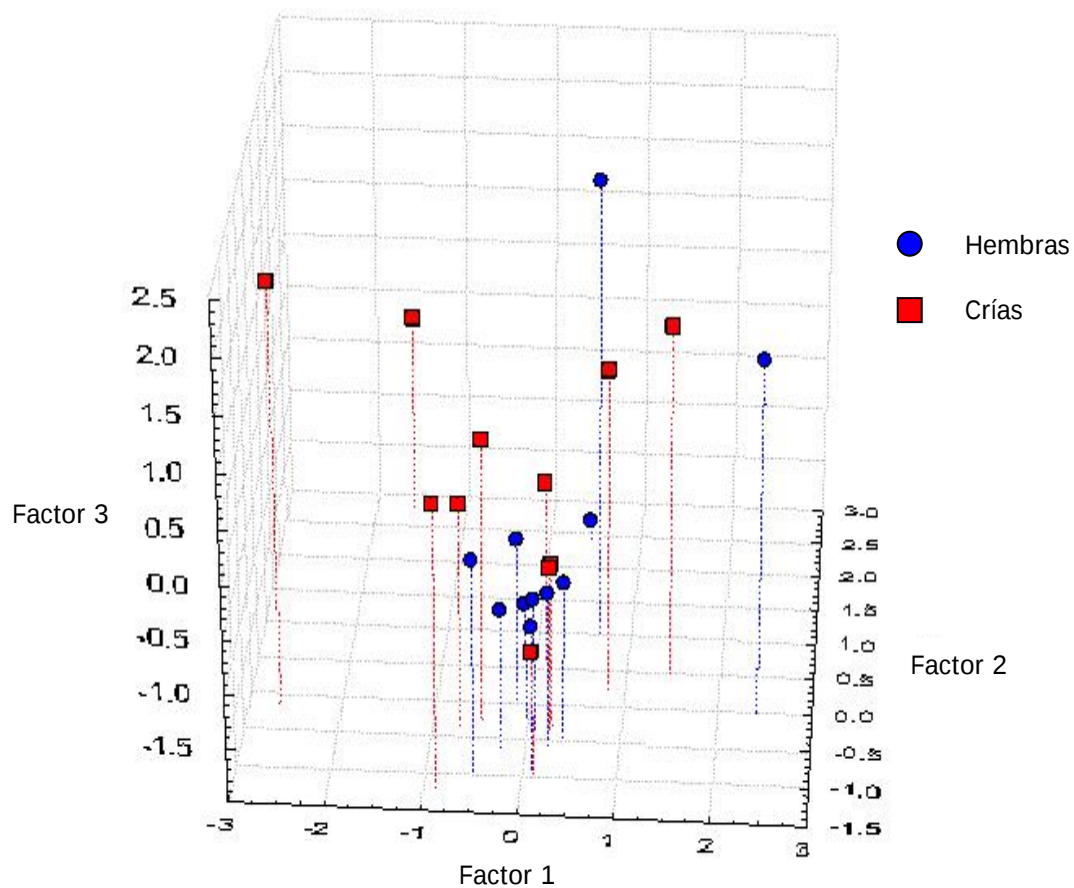


Figura 11. Gráfica 3D de componentes principales de las muestras de grasa.

DISCUSIÓN

4.1 Composición de AG en el plasma y patrón espacial

Los AG más abundantes en las hembras y en las crías fueron el 16:0 (34%) 22:0 (11.9%) y 16:1n7 (13%). En comparación con el estudio de Salazar-Valenzuela (2006), para la colonia de Los Islotes el AG más abundante fue el 18:1n9c (14%) seguido del 16:0 (9%) y los AG 22:0 y 16:1n7 presentaron concentraciones alrededor del 2%.

Estas diferencias eran de esperarse pues para este trabajo fue necesario agrupar a las hembras y crías de las seis diferentes loberías lo que como consecuencia aumentaría la variabilidad de los datos. Además al ser el plasma es un tejido altamente dinámico, está influenciado por el tiempo de ayuno en el que se encontraban las hembras y las crías al momento del muestreo.

Es importante resaltar la elevada concentración de los AGS; 55% para las hembras y 63% para las crías. Los AGPI en especial el 20:5n3 y el 22:6n3 son muy susceptibles a la oxidación y el producto de esta reacción son los AGS en particular el 16:0, por lo que altas concentraciones de AGS son indicativo de oxidación en la muestra (Carreón *et al.*, 2005). Lo anterior puede deberse a que la concentración del BHT utilizado no era la correcta, pues depende de la cantidad de lípidos totales presentes en la muestra, tarea difícil de realizar en el campo. Por otra parte, si la concentración de BHT es mayor a la requerida se causa el efecto contrario, es decir provoca una oxidación de los AG en lugar de su preservación (Carreón-Palau, com. pers.²)

En el presente trabajo y en el de Salazar-Valenzuela (2006) se encontró un AG de configuración trans 18:1n9t en concentraciones alrededor del 3%. Este tipo de AG son sintetizados por microorganismos presentes en el rumen de vacas, ovejas y otros animales rumiantes (Gurr y Harwood, 1991). En el caso del lobo marino es posible que existan algunos microorganismos del tipo de los rumiantes en el estómago de las madres y que sean transmitidos a las crías a través de la leche (Castro-González, 2002).

En los análisis multivariados podemos observar que no existe un patrón espacial definido pues en algunos casos las crías no se asocian con sus madres y la agrupación de las loberías no es muy clara. En un grupo podemos observar a las colonias; San Esteban, Lobos y Cantiles y en el otro grupo; Granito, Los Islotes y San Jorge. Esta agrupación sin embargo, no resulta lógica pues se unen loberías que

² Carreón-Palau, L. 2005. Laboratorio de tecnología de microalgas. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Mar Bermejo No. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Apdo. Postal 128; La Paz, México.

están en zonas muy alejadas entre sí, como es el caso de Granito al norte de las grandes Islas, San Jorge en el alto Golfo y los Islotes en el sur. Este resultado puede explicarse pues a pesar de que la transferencia de los AG de las madres a las crías es directa y sufre pequeñas modificaciones, el perfil de AG del plasma da información de la dieta inmediata y como ya se mencionó anteriormente, éste tejido tiene una gran variabilidad individual provocada por el tiempo relativo de ayuno.

4.2 Composición de AG en la grasa subcutánea y patrón espacial

Los AG más abundantes en la grasa de hembras y crías fueron el 18:1n9c y el 22:6n3, lo que concuerda con lo reportado en grasa subcutánea de otros pinnípedos como el elefante marino del sur (*Mirounga leonina*), (Best *et al.*, 2003), la foca gris (*Haliochoerus grypus*) y la foca de puerto (*Phoca vitulina*), (Iverson *et al.*, 2004) y de algunos cetáceos como el delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*), (Samuel *et al.*, 2004) y la ballena nariz de botella del norte (*Hyperoodon ampullatus*), (Hooker *et al.*, 2001).

Ningún AG de configuración trans fue mayor al 1%, lo que puede sugerir que aunque se encuentren circulantes en el plasma su asimilación en los depósitos de reserva no es favorecida. Lo mismo puede pasar con los AG n6 ya que en el plasma se encontraron casi al doble de concentración que en la grasa y en ésta última la concentración de los n3 fue casi cuatro veces la de los n6. Esto lo podemos notar con las relaciones n6/n3.

Smith *et al.* (1996) compararon las relaciones n6/n3 de 3 subespecies de foca de puerto, dos de ellas residentes de ambientes marinos y una que habita en ambientes dulceacuícolas. La foca de puerto de ambiente dulceacuícola (*Phoca vitulina mellonae*) tuvo una concentración casi cuatro veces mayor de AG n6 y por lo tanto una relación n6/n3 mayor en comparación con las focas de ambientes marinos. Estas diferencias se deben a que los productores primarios marinos tiene una relación

n6/n3 menor en comparación con sus contrapartes de agua dulce lo que se ve reflejado en los niveles tróficos superiores del ecosistema.

En la grasa subcutánea no se encontró ningún patrón espacial, se observa la formación de tres grupos pero éstos contienen individuos de todas las loberías mezcladas entre sí y el tercer grupo está formado por una hembra de Cantiles y una cría de Los Islotes lo cual no es nada lógico. En el estudio de Salazar-Valenzuela (2006) se demostró que la grasa subcutánea de las crías puede utilizarse para definir patrones espaciales y diferenciar hábitos alimentarios entre colonias. Este trabajo tenía la ventaja de contar con tamaños de muestra más representativos ($n \approx 10$) para cada colonia. Para este estudio se juntaron las hembras con las crías debido al bajo tamaño de muestra y cómo ya se sabe la composición de AG de la grasa entre ambas categorías de edad es muy distinta durante el periodo reproductivo lo que causa la variación observada.

4.3 Comparación de perfiles de AG entre hembras y crías

De acuerdo con los resultados encontrados, el plasma de las hembras y las crías es similar, no así la grasa subcutánea, esto es debido principalmente a la estrategia de lactancia que utilizan los otáridos (Iverson, 1993).

Los lobos marinos tienen lactancias prolongadas incluso de varios años por lo que las hembras tienen que alimentarse durante este periodo, en contraste con los fócidos que ayunan durante la lactancia ya que éstas son muy cortas (Riedman, 1990).

En pinnípedos que se alimentan durante la lactancia la composición de AG de la leche está directamente influenciada por la composición de los AG del alimento. Sólo en el periodo perinatal en el que las hembras ayunan y existe una movilización de las reservas, la composición de AG de la leche no reflejará la del alimento consumido esto también puede ocurrir si el alimento no cubre los requerimientos necesarios

para la producción de leche, caso en el que también se hará uso de las reservas (Iverson, 1993).

Para explicar el por qué el plasma de las hembras y crías es similar y la grasa subcutánea no, los pasos de la transferencia de estos AG se esquematizan en el siguiente diagrama:

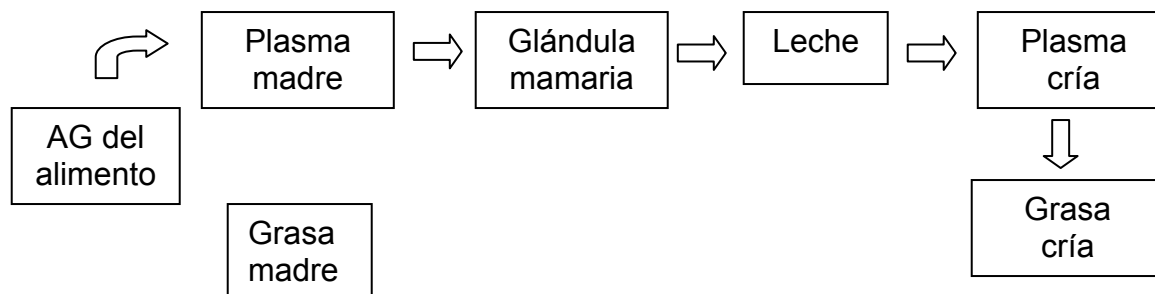


Figura 12. Transferencia de los AG hacia la cría durante la lactancia en los lobos marinos.

Cómo podemos observar en la figura 12, los AG de la grasa de la cría reflejarán los de la leche y a su vez los de alimento de la madre, es por esta razón que el plasma de las crías y el plasma de las madres no presentó diferencias ya que la transferencia de los AG es muy directa entre ambos tejidos. Este no es el caso de la grasa subcutánea pues no existe una transferencia de los ácidos grasos de la grasa de la madre hacia la grasa de la cría por lo que las diferencias encontradas en éste tejido son de esperarse. En la siguiente figura se presenta la transferencia de los AG hacia las crías durante el periodo perinatal ó durante un ayuno prolongado.

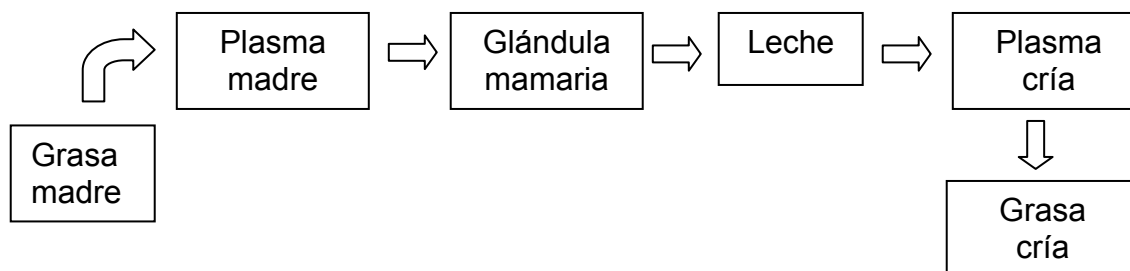


Figura 13. Transferencia de los AG hacia la cría durante el periodo perinatal ó en condiciones de ayuno prolongado.

El escenario anterior (Fig. 13) es el que se presenta para los fócidos y únicamente en condiciones como éstas podríamos esperar que los ácidos grasos de la grasa subcutánea de las crías reflejen los de la grasa subcutánea de las hembras.

Como podemos notar en los diagramas un paso muy importante en esta transferencia es la leche de las hembras, algunos estudios en osos negros (*Ursus americanus*), (Iverson *et al.*, 2001) y el lobo fino Antártico (*Arctocephalus gazella*), (Iverson *et al.*, 1997) concluyen que los ácidos grasos de la leche reflejan directamente los del alimento sin embargo otros estudios realizados también en lobo fino Antártico revelan lo contrario (Staniland *et al.*, 2004 y Staniland *et al.*, 2005) ya que no se encontró una composición diferencial en la leche que pudiera ser atribuida a los cambios en la dieta.

Otra variable importante de analizar en esta transferencia es si la grasa subcutánea de las crías reflejará la composición de AG de la leche de las hembras y una vez más existen estudios que apoyan esta afirmación y otros que no. Iverson *et al.* (1995), realizaron un estudio con parejas madre-cría de foca capuchina (*Cystophora cristata*) y comparó la composición de AG de la grasa subcutánea de las madres, la leche y la grasa subcutánea de las crías, al inicio de la lactancia los tres perfiles fueron diferentes pero conforme pasaba el tiempo los AG ingeridos por las crías fueron depositados directamente y sin ninguna modificación en su grasa y al cuarto día de lactancia la composición de la grasa de las crías fue casi idéntica a la de la leche consumida. En un estudio en foca gris (Grahl-Nielsen *et al.*, 2000) se encontró que la grasa de las crías fue similar a la grasa de las hembras pero la composición de AG de la grasa de las crías fue muy diferente a la de la leche. Algo similar se encontró para parejas madre-cría de ballenas blancas (*Delphinapterus leucas*), (Birkeland *et al.*, 2005) donde a lo largo de la lactancia la composición de AG de la grasa de las crías reflejó la composición de la grasa de las madres pero no la de la leche.

Debido a que la transferencia de los AG desde el alimento a los tejidos de las crías implica una serie de pasos en los que la composición original de éstos AG puede modificarse es necesario investigar cada una de estas etapas a fondo para así poder llegar a una conclusión robusta de si es factible inferir la dieta de las hembras a través de los tejidos de sus crías.

Sin embargo lo encontrado en este estudio apoya la teoría de que la transferencia es directa pues no se encontraron diferencias en el plasma de las hembras y las crías, por lo que los tejidos de las crías pueden ser un buen monitor de la dieta de las hembras de manera cualitativa es decir que nos pueden permitir detectar cambios o variaciones en la dieta.

¿Cuál de los dos tejidos es el más adecuado para describir la dieta? y la información que puede proporcionarnos cada uno de ellos será analizado en los siguientes capítulos.

IV. CONCLUSIONES

La composición de AG del plasma varió en relación a lo esperado pues los AGS se encontraron en cantidades muy elevadas indicando una posible oxidación de las muestras.

Los perfiles de AG del plasma y grasa subcutánea no presentaron un patrón espacial bien definido debido al bajo tamaño de muestra y a la alta variabilidad de los datos.

La composición de AG de la grasa fue muy similar a la reportada para otros mamíferos marinos.

La relación $n6/n3$ fue menor en la grasa en comparación con el plasma lo que puede ser un indicativo de que existe una asimilación preferencial de los AG $n3$.

El perfil de AG del plasma es similar entre hembras y crías ya que la composición de AG en el plasma de las crías podría ser un reflejo de la dieta de las hembras.

El perfil de AG de la grasa subcutánea de las hembras es distinto al de las crías pues no existe una transferencia directa de AG entre éstos tejidos durante la lactancia.

CAPÍTULO 2

VARIABILIDAD EN LOS PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS DEL PLASMA Y GRASA SUBCUTÁNEA DE CRÍAS DE LOBO MARINO

I. INTRODUCCIÓN

Como se discutió en el capítulo anterior la transferencia de los AG de las madres hacia sus crías durante la etapa de lactancia es directa (Iverson, 1993), lo que nos permite inferir y estudiar la dieta de las hembras adultas a partir de los tejidos de sus crías. Esto representa una gran ventaja metodológica ya que capturar y muestrear animales adultos es muy costoso e implica una gran inversión de tiempo, por el contrario muestrear crías resulta logísticamente más económico y permite tener tamaños de muestra mayores y más representativos de la población.

Sin embargo es de gran relevancia explorar la variabilidad que presentan los perfiles de AG en distintos tejidos con la finalidad de determinar cuál es más estable y adecuado para reflejar la dieta y así interpretar los resultados con el menor sesgo posible. De esta forma, se pretende analizar e interpretar solo aquellas diferencias en la composición de AG ocasionadas por la dieta.

En este capítulo se comparan los perfiles de AG del plasma y grasa subcutánea de una muestra de 35 crías de lobo marino y se explora la variabilidad de éstos tejidos con relación al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno de las crías.

El objetivo de esta parte del estudio es detectar la influencia de variables intrínsecas al muestreo sobre los perfiles de AG tanto en plasma como en grasa subcutánea, con el fin de disminuir ó controlar estas variaciones y mejorar la estrategia de muestreo.

II. METODOLOGÍA

Para determinar la variabilidad en los perfiles de AG en plasma y grasa subcutánea de crías de lobo marino de California se utilizó la base de datos generada por Castro-González (2002) proveniente de un muestreo de 35 individuos realizado en el mes de Junio de 1999 en la lobería Los Islotes. Dado que las crías de lobo marino nacen entre fines de mayo y mediados de julio de cada año, las crías muestreadas tenían un mes de edad en promedio, por lo que es seguro suponer que todas se estaban alimentando exclusivamente de leche, ya que el destete ocurre a partir del octavo mes de vida (Auriolles y Sinsel, 1988; Labrada, 2003).

2.1 Área de estudio

La colonia reproductora de Los Islotes se localiza en la margen noreste de la Bahía de La Paz (Fig. 14).

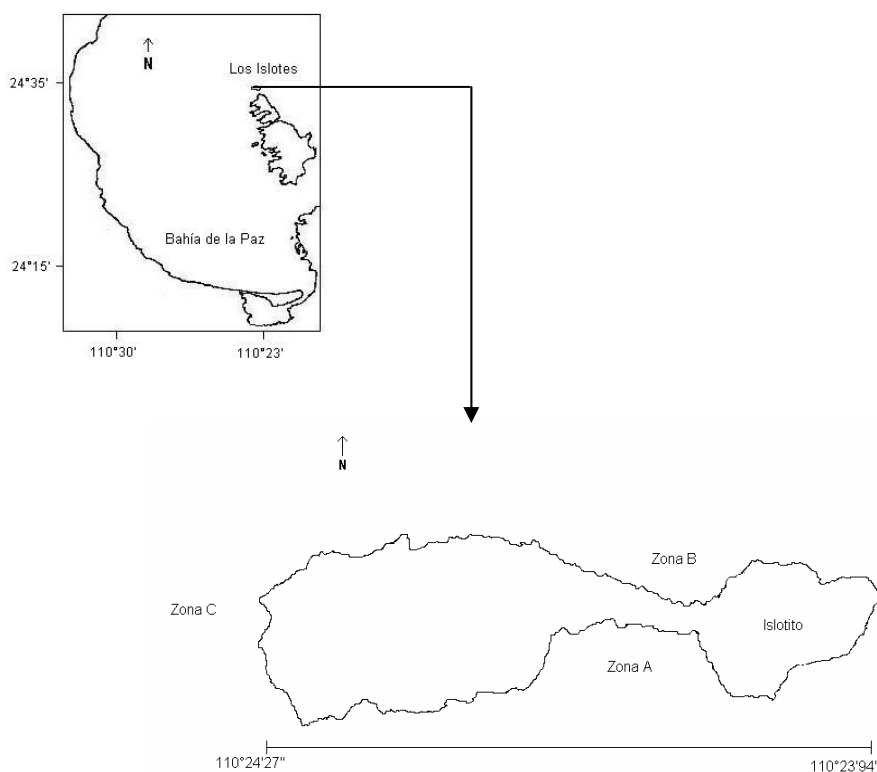


Figura 14. Localización geográfica de la colonia reproductora de Los Islotes. Tomado de Labrada-Martagón (2003).

Esta lobería se encuentra dividida en tres zonas principales (A, B y C), en las cuales se establecen grupos reproductores. La zona C también incluye un grupo de machos adultos y subadultos denominados solteros que no participan dentro de las actividades reproductivas (Hernández-Camacho, 2001; Labrada-Martagón, 2003)

2.2 Muestreo

Las crías se capturaron en las zonas A y B de la lobería, y se tomaron muestras de sangre y grasa subcutánea de cada animal. Se registro el sexo, presencia de cordón umbilical, medidas corporales como peso, longitud, grosor de capa de grasa y perímetro axilar. El manejo y conservación de las muestras en el campo se realizó de acuerdo a lo descrito por Castro-González (2002).

2.3 Análisis de datos

Una revisión de la base de datos desarrollada por Castro-González arrojó algunas discrepancias en el cálculo de las concentraciones de los AG principalmente de configuración *trans* que se encontraban en niveles muy elevados y que de acuerdo a conversaciones con la Dra. Sara Iverson³, estos resultaron ser anormales de acuerdo al conocimiento que se tiene de una larga lista de estudios realizados en mamíferos.

Para realizar la corrección de los valores se derivatizaron e inyectaron tres muestras de grasa del muestreo original y que se guardaban en congelación en el INCMNSZ. Los resultados obtenidos en este segundo análisis se compararon con los resultados anteriores para estas mismas muestras y se ajustaron las concentraciones de cada ácido graso, seleccionando los picos de los cromatogramas que tuvieran un área que correspondiera a la concentración real de cada ácido graso. Para el plasma no se pudo hacer lo anterior ya que no se conservaron muestras en congelación, sin embargo los valores de concentración se ajustaron de acuerdo al

³ Iverson, J. S. (2005). Department of Biology, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada B3H 4J1.

rango lógico y conocido de valores reportados en un estudio previo en la misma especie y lugar de muestreo (Salazar-Valenzuela, 2006).

Las bases de datos consistían de un total de 29 AG identificados y cuantificados para el plasma y de 30 para la grasa subcutánea, una vez realizadas las correcciones, se seleccionaron los AG para su posterior análisis estadístico en función de dos criterios; 1) todos los AG que tuvieran más del 0.5% de concentración, y 2) todos los AG indicadores de la dieta según Iverson *et al.* (2004), aunque estos fueran menores al 0.5%. Estos criterios aplicaron tanto al plasma como a la grasa subcutánea.

2.3.1 Variabilidad de los perfiles de AG de plasma y grasa subcutánea con respecto al sexo, peso, edad, y tiempo relativo de ayuno de las crías.

Para llevar a cabo este análisis se dividió al grupo de crías en diferentes categorías de acuerdo a las variables de interés; para el sexo y tiempo relativo de ayuno se formaron dos categorías y para la edad y el peso las crías fueron divididas en tres grupos. Una vez formadas estas categorías, se compararon entre sí por medio de una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con el programa Statistica 7.0 (StatSoft, Inc. 2004) y una prueba *a posteriori* de comparaciones múltiples de rangos de medias de Siegel y Castellan. La prueba se aplicó para cada ácido graso así como para el total de AGS, AGMI, AGPI y familias n-6 y n-3.

No se contó con los 35 perfiles de AG para plasma y grasa subcutánea por igual y también se presentaron ausencia de datos de peso y nivel de triglicéridos para algunas crías, por lo que los tamaños de muestra para cada categoría fueron distintos en cada tejido. Se eliminaron aquellas crías que presentaron valores muy anormales en la concentración de algún AG para evitar sesgos de interpretación. Como resultado de esta depuración se eliminaron cuatro crías para el plasma y tres crías para la grasa subcutánea.

Para la variable del sexo los grupos quedaron de acuerdo a la Tabla 4.

Tabla 4. Características del muestreo por sexo y tejido en crías de lobo marino de Los Islotes.

Tejido	Sexo	n
Plasma	Hembras	10
	Machos	15
Grasa	Hembras	14
	Machos	18

Con respecto al peso (Tabla 5) se formaron tres grupos de crías, el primero contiene a por las crías de 6.9 a 10 Kg, el segundo de 10.1 a 13 Kg y el tercero de 13.1 a 15 Kg.

Tabla 5. Características del muestreo por peso y tejido en crías de lobo marino de Los Islotes.

Tejido	Peso	n
Plasma	6.9-10.0 Kg	13
	10.1-13.0 Kg	10
	13.1-15 Kg	2
Grasa	6.9-10.0 Kg	14
	10.1-13.0 Kg	11
	13.1-15 Kg	2

La edad de las crías se estableció de acuerdo al tipo de cicatriz umbilical que presentaban (Tabla 6). Aquellas con cicatriz fresca se consideraron menores de una semana de edad, con cicatriz vieja ó seca de una a dos semanas de edad y sin cicatriz como mayores de dos semanas de edad (Castro-González, 2002). Los grupos resultantes se muestran a continuación.

Tabla 6. Características del muestreo por edad y tejido en crías de lobo marino de Los Islotes.

Tejido	Edad	n
Plasma	< 1 semana	14
	1 a 2 semanas	5
	> 2 semanas	6
Grasa	< 1 semana	15
	1 a 2 semanas	8
	> 2 semanas	9

Con relación al tiempo relativo de ayuno se formaron dos grupos de crías dependiendo del nivel de triglicéridos presentes en la sangre (Tabla 7). Se consideraron como individuos en ayuno aquellos con una concentración de triglicéridos menor a 100mg/dL y como recién alimentados a los que presentaban más de 100mg/dL. (Castro- González, 2002).

Tabla 7. Características del muestreo por tiempo relativo de ayuno y tejido en crías de lobo marino de Los Islotes.

Tejido	Tiempo relativo de ayuno	n
Plasma	Ayuno	19
	Recién alimentados	6
Grasa	Ayuno	21
	Recién alimentados	6

Como complemento a las pruebas antes mencionadas se realizaron análisis de componentes principales utilizando matriz de covarianza y análisis de clasificación con el índice de afinidad de Ward y la distancia de Bray-Curtis, para este fin se utilizó

el programa Community Análisis Package (CAP) 1.52 (Henderson y Seaby, 1999). El nivel de corte de los dendrogramas así como la formación de los grupos se basó en un criterio que generara las agrupaciones mayores ó más generales, en lugar de la obtención de varios grupos menores ó pequeños.

2.3.2 Comparación entre perfiles de grasa subcutánea y plasma

Se realizó una prueba de U de Mann-Whitney para cada ácido graso, familias n-6 y n-3 y el total de AGPI, pues como se explica más adelante no fue posible calcular el total de AGS y AGMI en la grasa subcutánea. Para lo anterior se utilizó el programa Statistica 7.0 (StatSoft, Inc. 2004). Los valores de concentración de AG que se compararon fueron aquellos seleccionados tanto en la grasa como en el plasma con los criterios ya expuestos.

III. RESULTADOS

3.1 Corrección de los valores de AG en el plasma

Cómo ya se mencionó anteriormente los AG *trans*; 18:1n9t y 18:2n6t estaban sobre-estimados y de acuerdo con el tiempo de retención que les correspondía no había ningún pico que diera una concentración pequeña que se considerara normal, por lo que se decidió eliminarlos del análisis para evitar errores. Algo similar sucedió con el ácido graso 17:1, que presentaba concentraciones por arriba del 30%, lo cual indicaba error de acuerdo a una muestra más grande y que cubrió más localidades según Salazar-Valenzuela (2006). En ese trabajo el AG 17:1 no rebasó el 2%. Por otra parte y debido a que es un AG de origen metabólico, se eliminó del análisis ya que no proporcionaba información sobre la dieta. El ácido 20:3n6 se encontró en situación similar ya que las concentraciones máximas reportadas son de 13% (Salazar-Valenzuela, 2006) y su promedio en la muestra fue de 43%. Considerando que éste AG es importante indicador de la dieta, se incluyó con las reservas del caso.

Una vez corregidos todos los valores, se seleccionaron los AG para el análisis estadístico. La concentración promedio de los 15 AG elegidos se muestra en la Tabla 8. Las concentraciones promedio de los 29 AG identificados y cuantificados se muestran en el Apéndice II.

Tabla 8. Concentraciones promedio de AG expresadas en porcentaje con respecto al total de AG $\pm$ error estándar en plasma de crías de lobo marino de California.

Ácido Graso	% Plasma
14:0	1.87 $\pm$ 0.56
15:0	1.43 $\pm$ 0.47
16:0	7.85 $\pm$ 0.65
16:1	0.67 $\pm$ 0.10
17:0	0.65 $\pm$ 0.19
18:0	2.89 $\pm$ 1.93
18:1n9c	12.77 $\pm$ 1.32
18:2n6c	2.91 $\pm$ 0.22
18:3n6	0.54 $\pm$ 0.12
21:0	1.60 $\pm$ 0.59
20:3n6	43.54 $\pm$ 3.15
22:1n9	2.07 $\pm$ 0.86
22:2n6	4.30 $\pm$ 0.53
24:1	1.91 $\pm$ 0.93
22:6n3	11.77 $\pm$ 0.82
Σ AGS	16.29 $\pm$ 1.07
Σ AGMI	17.42 $\pm$ 2.82
Σ AGPI	63.06 $\pm$ 7.95
Σ n6	51.30 $\pm$ 10.27
Σ n3	11.77
n6/n3	4.36

Cómo se puede observar el ácido graso más abundante fue el 20:3n6 sin embargo este resultado está probablemente sobre-estimado y deberá tomarse con reserva y debido a esto los AG n6 y los AGPI fueron más abundantes. En cuanto a los AG esenciales de la familia n6 el 20:4n6 no se reportó pues sólo se detectó en cuatro crías y su concentración no rebasó el 0.1%, por otro lado el 18:2n6 tuvo un promedio de 2.9% en el plasma de las crías. Pasando a los AG esenciales de la familia n3 el 18:3n3 y el 20:5n3 solo se detectaron en dos y ocho crías respectivamente y sus concentraciones promedio fueron menores al 0.1% por lo que tampoco fueron

reportados ni incluidos en los análisis. Finalmente el ácido graso 22:6n3 si se incluyó pues presentó un promedio de 11.7% de la composición total del plasma.

3.2 Variabilidad en los perfiles de AG del plasma con respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno

La base de datos se depuró eliminando a cuatro individuos, que correspondían a aquellas crías que presentaban valores muy anormales de ciertos AG y que causaban un sesgo en los resultados. No se encontró diferencia significativa para ningún ácido graso ni para el total de AGS, AGMI, AGPI, n6 y n3 con relación al sexo (Tabla 9) peso (Tabla 10) y edad de las crías (Tabla 11).

Tabla 9. Concentraciones promedio de AG del plasma expresadas en porcentajes con respecto al total de AG $\pm$ error estándar de acuerdo al sexo de las crías de lobo marino.

Ácido graso	Hembras	Machos
14:0	2.64 $\pm$ 1.08	1.36 $\pm$ 0.58
15:0	2.21 $\pm$ 0.97	0.91 $\pm$ 0.41
16:0	9.60 $\pm$ 1.18	6.68 $\pm$ 0.62
16:1	0.82 $\pm$ 0.22	0.57 $\pm$ 0.07
17:0	0.98 $\pm$ 0.39	0.44 $\pm$ 0.16
18:0	0.79 $\pm$ 0.15	4.28 $\pm$ 3.21
18:1n9c	12.30 $\pm$ 2.12	13.07 $\pm$ 1.75
18:2n6c	3.41 $\pm$ 0.36	2.58 $\pm$ 0.24
18:3n6	0.69 $\pm$ 0.22	0.44 $\pm$ 0.15
21:0	1.00 $\pm$ 0.60	2.00 $\pm$ 0.91
20:3n6	41.30 $\pm$ 5.58	45.04 $\pm$ 3.82
22:1n9	0.72 $\pm$ 0.31	2.97 $\pm$ 1.38
22:2n6	4.21 $\pm$ 0.79	4.36 $\pm$ 0.73
24:1	3.34 $\pm$ 2.28	0.96 $\pm$ 0.31
22:6n3	11.11 $\pm$ 1.29	12.21 $\pm$ 1.09
Σ AGS	16.22 $\pm$ 3.35	13.67 $\pm$ 3.66
Σ AGMI	17.18 $\pm$ 4.38	17.57 $\pm$ 2.06
Σ AGPI	60.72 $\pm$ 7.00	64.63 $\pm$ 4.83
Σ n6	49.61 $\pm$ 5.83	52.42 $\pm$ 3.91
Σ n3	10.98 $\pm$ 1.37	12.21 $\pm$ 1.09

Tabla 10. Concentraciones promedio de AG del plasma expresadas en porcentajes con respecto al total de AG $\pm$ error estándar de acuerdo al peso de las crías de lobo marino.

Ácido graso	6.9-10 kg	10.1-13kg	13.1-15kg
14:0	2.61 $\pm$ 0.94	1.30 $\pm$ 0.61	0.00 $\pm$ 0.00
15:0	1.96 $\pm$ 0.80	1.02 $\pm$ 0.48	0.00 $\pm$ 0.00
16:0	8.83 $\pm$ 0.95	6.41 $\pm$ 0.91	8.65 $\pm$ 2.08
16:1	0.68 $\pm$ 0.19	0.65 $\pm$ 0.02	0.68 $\pm$ 0.17
17:0	0.82 $\pm$ 0.32	0.47 $\pm$ 0.20	0.49 $\pm$ 0.38
18:0	4.78 $\pm$ 3.70	0.74 $\pm$ 0.18	1.31 $\pm$ 0.39
18:1n9c	14.63 $\pm$ 2.43	10.72 $\pm$ 0.53	10.87 $\pm$ 1.54
18:2n6c	3.13 $\pm$ 0.36	2.68 $\pm$ 0.26	2.66 $\pm$ 0.66
18:3n6	0.62 $\pm$ 0.19	0.42 $\pm$ 0.17	0.58 $\pm$ 0.58
21:0	2.18 $\pm$ 1.08	0.95 $\pm$ 0.45	1.03 $\pm$ 1.03
20:3n6	36.40 $\pm$ 5.11	51.34 $\pm$ 2.29	50.95 $\pm$ 3.84
22:1n9	2.57 $\pm$ 1.62	1.74 $\pm$ 0.50	0.51 $\pm$ 0.51
22:2n6	4.10 $\pm$ 0.70	4.39 $\pm$ 0.99	5.16 $\pm$ 0.72
24:1	2.69 $\pm$ 1.77	1.00 $\pm$ 0.39	1.41 $\pm$ 0.25
22:6n3	9.92 $\pm$ 1.24	13.46 $\pm$ 0.86	15.34 $\pm$ 0.84
Σ AGS	19.01 $\pm$ 4.39	9.93 $\pm$ 1.94	10.44 $\pm$ 2.06
Σ AGMI	20.56 $\pm$ 3.85	14.12 $\pm$ 0.65	13.47 $\pm$ 1.10
Σ AGPI	54.19 $\pm$ 6.60	72.28 $\pm$ 2.23	74.70 $\pm$ 2.48
Σ n6	44.27 $\pm$ 5.46	58.82 $\pm$ 1.86	59.36 $\pm$ 3.32
Σ n3	9.82 $\pm$ 1.28	13.46 $\pm$ 0.86	15.34 $\pm$ 0.84

Con respecto al tiempo relativo de ayuno se encontraron diferencias significativas en cuatro AG (Tabla 12) los AG 14:0 (H (1, N= 25) =3.959138 p =.0466), 15:0 (H (1, N= 25) =3.959138 p =.0466) y 18:2n6 (H (1, N= 25) =4.408907 p =.0358) fueron mayores en las crías en ayuno. Por el contrario el ácido graso 20:3n6 fue significativamente mayor en las crías recién alimentadas (H (1, N= 25) =9.720648 p =.0018). Los AGPI (H (1, N= 25) =9.327935 p =.0023) y los n6 (H (1, N= 25) =10.94737 p =.0009) fueron significativamente mayores en las crías recién alimentadas y los AGS (H (1, N= 25) =4.959514 p =.0259) fueron mayores en las crías en ayuno.

Tabla 11. Concentraciones promedio de AG del plasma expresadas en porcentajes con respecto al total de AG $\pm$ error estándar de acuerdo la edad de las crías de lobo marino.

Ácido graso	< 1 semana	1-2 semanas	> 2 semanas
14:0	1.84 $\pm$ 0.58	3.39 $\pm$ 2.19	0.71 $\pm$ 0.57
15:0	1.30 $\pm$ 0.43	2.86 $\pm$ 1.94	0.53 $\pm$ 0.44
16:0	7.55 $\pm$ 0.60	8.17 $\pm$ 2.79	8.29 $\pm$ 1.05
16:1	0.71 $\pm$ 0.17	0.57 $\pm$ 0.07	0.65 $\pm$ 0.05
17:0	0.53 $\pm$ 0.16	1.17 $\pm$ 0.80	0.50 $\pm$ 0.24
18:0	4.41 $\pm$ 3.44	1.17 $\pm$ 0.38	0.76 $\pm$ 0.24
18:1n9c	14.49 $\pm$ 2.22	11.54 $\pm$ 1.02	9.77 $\pm$ 0.91
18:2n6c	2.76 $\pm$ 0.19	3.45 $\pm$ 0.87	2.81 $\pm$ 0.37
18:3n6	0.43 $\pm$ 0.12	0.74 $\pm$ 0.45	0.62 $\pm$ 0.27
21:0	1.63 $\pm$ 0.73	0.54 $\pm$ 0.23	2.41 $\pm$ 1.87
20:3n6	40.54 $\pm$ 4.86	44.08 $\pm$ 6.97	50.10 $\pm$ 3.11
22:1n9	2.70 $\pm$ 1.49	1.14 $\pm$ 0.85	1.38 $\pm$ 0.57
22:2n6	3.96 $\pm$ 0.66	3.49 $\pm$ 1.56	5.78 $\pm$ 0.87
24:1	2.76 $\pm$ 1.64	0.16 $\pm$ 0.16	1.39 $\pm$ 0.34
22:6n3	11.17 $\pm$ 1.13	12.35 $\pm$ 2.59	12.68 $\pm$ 0.97
Σ AGS	15.63 $\pm$ 3.70	16.76 $\pm$ 7.48	10.79 $\pm$ 2.02
Σ AGMI	20.66 $\pm$ 3.51	13.41 $\pm$ 1.12	13.19 $\pm$ 0.60
Σ AGPI	58.87 $\pm$ 6.21	64.11 $\pm$ 8.25	71.98 $\pm$ 3.04
Σ n6	47.70 $\pm$ 5.16	51.75 $\pm$ 5.99	59.31 $\pm$ 2.58
Σ n3	11.17 $\pm$ 1.13	12.09 $\pm$ 2.80	12.68 $\pm$ 0.97

Pasando al análisis de clasificación (Fig. 15) podemos observar la formación de dos grupos de crías, uno de los cuáles está compuesto solamente por cuatro de ellas que se separan del resto debido a su composición diferencial de AG en el plasma al momento del muestreo. El análisis discriminante arrojó una clasificación significativa y correcta del 100% (Lambda de Wilks = 0.013, $p < 0.000$).

La distribución espacial de éstos grupos se puede ver en el análisis de componentes principales (Fig. 16). La varianza explicada por los dos primeros componentes es del 81%. Los AG que contribuyen a la separación en el componente uno son el 20:3n6 y 18:0 y los que contribuyen a la separación en el componente dos son el 18:1n9c y el 24:1.

La cría número 11 es la que presenta la concentración más elevada del ácido graso 18:0 (49%), es decir que casi la mitad de su plasma estuvo constituido por este AG, lo que ocasiona que se separe del resto. Las crías 7, 8, 11 y 17 son las que presentan la menor concentración del ácido 20:3n6 y por el contrario concentraciones altas de los ácidos 18:1n9c y 24:1.

Tabla 12. Concentraciones promedio de AG del plasma expresadas en porcentajes con respecto al total de AG $\pm$ error estándar de acuerdo al tiempo relativo de ayuno de las crías de lobo marino. Los asteriscos indican diferencias significativas entre ambas categorías.

Ácido graso	Ayuno	Recién alimentado
14:0*	2.45 $\pm$ 0.69	0.05 $\pm$ 0.05
15:0*	1.87 $\pm$ 0.58	0.03 $\pm$ 0.03
16:0	8.30 $\pm$ 0.81	6.42 $\pm$ 0.73
16:1	0.68 $\pm$ 0.13	0.64 $\pm$ 0.03
17:0	0.81 $\pm$ 0.23	0.16 $\pm$ 0.05
18:0	3.58 $\pm$ 2.53	0.68 $\pm$ 0.29
18:1n9c	13.60 $\pm$ 1.70	10.13 $\pm$ 0.39
18:2n6c*	3.13 $\pm$ 0.26	2.23 $\pm$ 0.08
18:3n6	0.63 $\pm$ 0.16	0.25 $\pm$ 0.09
21:0	1.93 $\pm$ 0.77	0.54 $\pm$ 0.27
20:3n6*	39.87 $\pm$ 3.73	55.19 $\pm$ 2.00
22:1n9	2.32 $\pm$ 1.11	1.27 $\pm$ 0.60
22:2n6	3.68 $\pm$ 0.47	6.26 $\pm$ 1.45
24:1	2.20 $\pm$ 1.22	1.00 $\pm$ 0.33
22:6n3	11.15 $\pm$ 1.03	13.73 $\pm$ 0.57
Σ AGS*	17.01 $\pm$ 3.16	7.34 $\pm$ 0.65
Σ AGMI	18.80 $\pm$ 2.68	13.04 $\pm$ 0.32
Σ AGPI*	58.46 $\pm$ 4.74	77.66 $\pm$ 1.03
Σ n6*	47.31 $\pm$ 3.84	63.93 $\pm$ 0.84
Σ n3	11.08 $\pm$ 1.06	13.73 $\pm$ 0.57

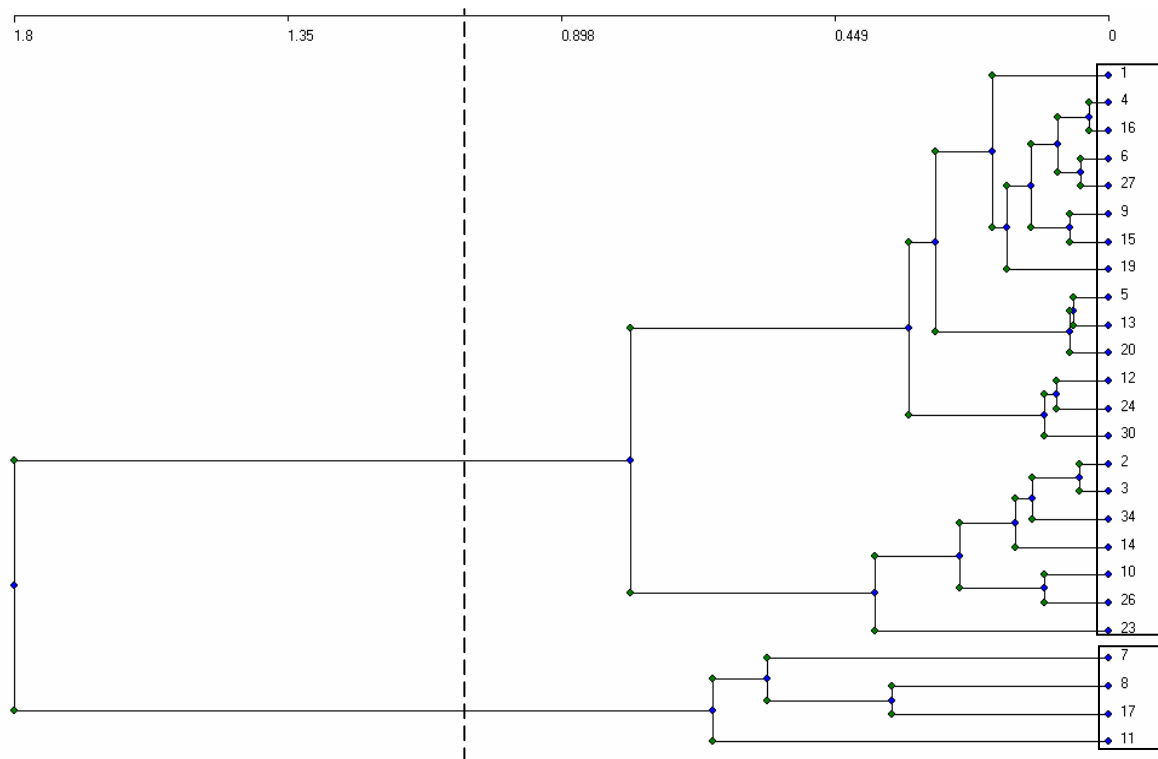


Figura 15. Dendrograma de clasificación basado en el perfil de AG del plasma de las crías de lobo marino. La línea punteada representa la línea de corte para la formación de los grupos.

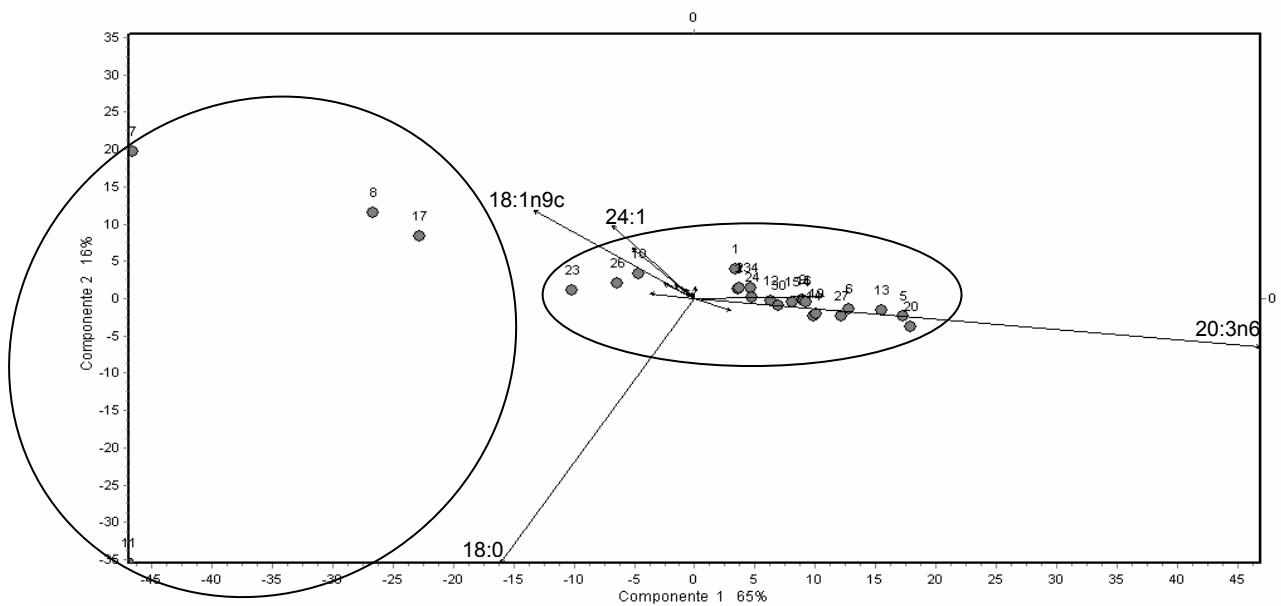


Figura 16. Análisis de componentes principales basado en el perfil de AG del plasma de las crías de lobo marino. Los círculos marcan los grupos formados en el análisis de clasificación.

3.3 Corrección de los valores de AG en la grasa

Al igual que en el plasma los AG *trans* (18:1n9t y 18:2n6t) no se incluyeron en el análisis pues aún después de recalcular su concentración ésta seguía siendo muy elevada. Los AG 16:0 y 16:1 tuvieron que reportarse juntos debido a un problema con la columna del cromatógrafo que no realizó la separación entre ambos y sólo aparecía un pico con un área muy grande dentro de los tiempos de retención que correspondían a estos dos ácidos. Como consecuencia de esto no se pudo calcular el total de AGS ni AGMI ni realizar las comparaciones entre ellos. En la Tabla 13 se muestra la composición promedio de los 23 AG incluidos en los análisis.

Tabla 13. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea expresadas en porcentaje con respecto al total de AG $\pm$ error estándar en crías de lobo marino.

Ácido Graso	% Grasa	
14:0	5.10	$\pm$ 0.22
14:1	0.57	$\pm$ 0.14
15:0	0.51	$\pm$ 0.05
16:0 y 16:1	45.43	$\pm$ 0.73
17:0	0.51	$\pm$ 0.03
17:1	0.80	$\pm$ 0.04
18:0	0.61	$\pm$ 0.10
18:1n9c	22.44	$\pm$ 0.28
18:2n6c	1.19	$\pm$ 0.08
18:3n6	1.07	$\pm$ 0.14
20:1	0.75	$\pm$ 0.06
18:3n3	1.24	$\pm$ 0.41
21:0	0.73	$\pm$ 0.06
20:2n6	0.53	$\pm$ 0.03
20:3n6	0.71	$\pm$ 0.04
22:1n9	0.11	$\pm$ 0.05
20:3n3	0.03	$\pm$ 0.01
20:4n6	0.95	$\pm$ 0.07
22:2n6	0.69	$\pm$ 0.15
20:5n3	2.98	$\pm$ 0.10
24:1	3.93	$\pm$ 0.16
22:6n3	7.77	$\pm$ 0.43
Σ AGPI	17.16	$\pm$ 0.72
Σ n6	5.14	$\pm$ 0.1
Σ n3	12.02	$\pm$ 1.69
n6/n3	0.43	

Las concentraciones promedio de los 30 AG identificados y cuantificados se muestran en el Apéndice II. El mayor porcentaje corresponde a los AG 16:0 y 16:1 (45%) seguidos del ácido 18:1n9c (22%) y del 22:6n3 (7%). Todos los AG esenciales de la familia n3 y n6 estuvieron presentes en la grasa y el más abundante fue el 22:6n3 (DHA). En cuanto a familias de AG, los n3 fueron más del doble de los n6 por lo que la relación n6/n3 fue pequeña.

3.4 Variabilidad en los perfiles de AG de la grasa subcutánea con respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno

No se encontró diferencia significativa para ningún ácido graso ni para los AGPI, n6 y n3 con respecto al sexo de las crías (Tabla 14).

Para la variable del peso se encontraron diferencias significativas en cuatro AG (Tabla 15). Los ácidos 14:0 ($H(2, N=24) = 6.3480, p = .0418$) y 20:2n6 ($H(2, N=24) = 11.34667, p = .0034$) fueron significativamente mayores en las crías de 6.9 a 10 kg de peso con respecto a las de 10.1 a 13 kg. Mientras que los ácidos 18:1n9c ($H(2, N=24) = 8.814667, p = .0122$) y 22:1n9 ($H(2, N=24) = 8.887605, p = .0118$) fueron mayores en las crías de 10.1 a 13 kg en comparación con las de 6.9 a 10 kg. No se encontraron diferencias para el total de AGPI ni familias n6 y n3. Los valores de la prueba de comparación de medias se presentan en el Apéndice III.

Tabla 14. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea de acuerdo al sexo de las crías, expresadas en porcentaje con respecto al total de AG $\pm$ error estándar.

Ácido Graso	Hembras	Machos
14:0	5.50 $\pm$ 0.41	4.78 $\pm$ 0.21
14:1	0.53 $\pm$ 0.18	0.60 $\pm$ 0.21
15:0	0.46 $\pm$ 0.05	0.55 $\pm$ 0.08
16:0 y 16:1	45.37 $\pm$ 0.92	45.48 $\pm$ 1.11
17:0	0.54 $\pm$ 0.04	0.48 $\pm$ 0.05
17:1	0.74 $\pm$ 0.07	0.85 $\pm$ 0.04
18:0	0.71 $\pm$ 0.19	0.54 $\pm$ 0.10
18:1n9c	22.31 $\pm$ 0.51	22.55 $\pm$ 0.32
18:2n6c	1.11 $\pm$ 0.08	1.25 $\pm$ 0.13
18:3n6	0.94 $\pm$ 0.21	1.18 $\pm$ 0.20
20:1	0.79 $\pm$ 0.10	0.72 $\pm$ 0.08
18:3n3	1.72 $\pm$ 0.74	0.84 $\pm$ 0.44
21:0	0.62 $\pm$ 0.08	0.83 $\pm$ 0.09
20:2n6	0.57 $\pm$ 0.05	0.49 $\pm$ 0.03
20:3n6	0.77 $\pm$ 0.04	0.66 $\pm$ 0.07
22:1n9	0.17 $\pm$ 0.09	0.06 $\pm$ 0.03
20:3n3	0.02 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.02
20:4n6	0.93 $\pm$ 0.09	0.97 $\pm$ 0.11
22:2n6	0.61 $\pm$ 0.13	0.76 $\pm$ 0.25
20:5n3	3.06 $\pm$ 0.17	2.92 $\pm$ 0.13
24:1	3.85 $\pm$ 0.23	3.99 $\pm$ 0.22
22:6n3	7.41 $\pm$ 0.70	8.06 $\pm$ 0.54
Σ AGPI	16.58 $\pm$ 0.77	16.68 $\pm$ 0.90
Σ n6	4.37 $\pm$ 0.32	4.81 $\pm$ 0.41
Σ n3	12.21 $\pm$ 0.77	11.87 $\pm$ 0.67

Tabla 15. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea de acuerdo al peso de las crías, expresadas en porcentaje con respecto al total de AG $\pm$ error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las categorías.

Ácido Graso	6.9 - 10kg	10.1 – 13kg	13.1 - 15kg
14:0*	*5.69 $\pm$ 0.36	*4.46 $\pm$ 0.32	5.57 $\pm$ 0.92
14:1	0.73 $\pm$ 0.19	0.71 $\pm$ 0.30	0.00 $\pm$ 0.00
15:0	0.48 $\pm$ 0.04	0.44 $\pm$ 0.08	0.42 $\pm$ 0.11
16:0 y 16:1	46.43 $\pm$ 0.76	43.49 $\pm$ 1.54	47.28 $\pm$ 5.37
17:0	0.45 $\pm$ 0.03	0.49 $\pm$ 0.06	0.59 $\pm$ 0.12
17:1	0.68 $\pm$ 0.06	0.86 $\pm$ 0.07	0.97 $\pm$ 0.04
18:0	0.51 $\pm$ 0.11	0.54 $\pm$ 0.07	1.10 $\pm$ 0.73
18:1n9c*	*21.64 $\pm$ 0.38	*23.62 $\pm$ 0.42	22.97 $\pm$ 1.12
18:2n6c	1.13 $\pm$ 0.06	1.35 $\pm$ 0.21	1.24 $\pm$ 0.22
18:3n6	0.97 $\pm$ 0.21	1.17 $\pm$ 0.24	1.14 $\pm$ 1.07
20:1	0.89 $\pm$ 0.08	0.62 $\pm$ 0.13	0.80 $\pm$ 0.07
18:3n3	1.55 $\pm$ 0.78	1.73 $\pm$ 0.70	0.00 $\pm$ 0.00
21:0	0.68 $\pm$ 0.05	0.76 $\pm$ 0.17	0.77 $\pm$ 0.16
20:2n6*	*0.65 $\pm$ 0.04	*0.44 $\pm$ 0.03	0.43 $\pm$ 0.02
20:3n6	0.71 $\pm$ 0.03	0.73 $\pm$ 0.10	0.49 $\pm$ 0.33
22:1n9*	*0.03 $\pm$ 0.02	*0.28 $\pm$ 0.11	0.00 $\pm$ 0.00
20:3n3	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.02	0.00 $\pm$ 0.00
20:4n6	0.81 $\pm$ 0.06	0.89 $\pm$ 0.16	1.16 $\pm$ 0.24
22:2n6	0.97 $\pm$ 0.34	0.54 $\pm$ 0.08	0.56 $\pm$ 0.07
20:5n3	3.14 $\pm$ 0.18	2.84 $\pm$ 0.17	2.59 $\pm$ 0.40
24:1	4.01 $\pm$ 0.26	3.71 $\pm$ 0.27	3.79 $\pm$ 0.64
22:6n3	6.61 $\pm$ 0.56	8.88 $\pm$ 0.67	6.90 $\pm$ 1.60
Σ AGPI	15.91 $\pm$ 0.63	18.17 $\pm$ 1.24	14.07 $\pm$ 3.94
Σ n6	4.58 $\pm$ 0.37	4.68 $\pm$ 0.59	4.58 $\pm$ 1.94
Σ n3	11.33 $\pm$ 0.53	13.49 $\pm$ 1.00	9.49 $\pm$ 2.00

De acuerdo a la edad de las crías (Tabla 16) se encontraron diferencias significativas en 7 AG. Los ácidos 14:1 (H (2, N= 29) =7.968998, p =.0186) y 20:2n6 (H (2, N= 29) =8.325123, p =.0156), fueron mayores en las crías menores de una semana de edad con respecto a las mayores de dos semanas de edad. Los ácidos 17:0 (H (2, N= 29) =7.727833, p =.0210), 17:1 (H (2, N= 29) =6.783005, p =.0337) y 20:4n6 (H (2, N= 29) =8.259852, p =.0161), fueron significativamente mayores en las crías mayores de dos semanas de edad en comparación con las menores a una semana de edad. El ácido graso 15:0 (H (2, N= 29) =10.64967, p =.0049), fue más abundante en las crías mayores de dos semanas de edad con respecto a las de una

a dos semanas de edad y finalmente el ácido 22:2n6 (H (2, N= 29) =9.469006 p =.0088), fue mayor en las crías menores de una semana de edad en comparación con las de una a dos semanas de edad. Los valores de la prueba de comparación de medias se muestran en el Apéndice III. No se encontraron diferencias significativas para los AGPI, n6 y n3.

Tabla 16. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea de acuerdo a la edad de las crías, expresadas en porcentaje con respecto al total de AG $\pm$ error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las categorías.

Ácido Graso	< 1 semana	1 – 2 semanas	> 2 semanas
14:0	5.26 $\pm$ 0.34	5.24 $\pm$ 0.41	4.69 $\pm$ 0.43
14:1*	*0.96 $\pm$ 0.24	0.32 $\pm$ 0.12	*0.11 $\pm$ 0.08
15:0*	0.46 $\pm$ 0.05	*0.37 $\pm$ 0.07	*0.72 $\pm$ 0.12
16:0 y 16:1	44.62 $\pm$ 1.03	47.17 $\pm$ 1.58	45.31 $\pm$ 1.36
17:0*	*0.47 $\pm$ 0.03	0.44 $\pm$ 0.08	*0.64 $\pm$ 0.05
17:1*	*0.76 $\pm$ 0.04	0.70 $\pm$ 0.11	*0.95 $\pm$ 0.06
18:0	0.53 $\pm$ 0.10	0.71 $\pm$ 0.19	0.67 $\pm$ 0.30
18:1n9c	22.18 $\pm$ 0.43	22.33 $\pm$ 0.56	23.00 $\pm$ 0.52
18:2n6c	1.32 $\pm$ 0.12	0.99 $\pm$ 0.19	1.12 $\pm$ 0.12
18:3n6	1.10 $\pm$ 0.20	1.22 $\pm$ 0.32	0.89 $\pm$ 0.30
20:1	0.83 $\pm$ 0.10	0.82 $\pm$ 0.11	0.55 $\pm$ 0.09
18:3n3	2.20 $\pm$ 0.73	0.00 $\pm$ 0.00	0.63 $\pm$ 0.52
21:0	0.64 $\pm$ 0.08	0.66 $\pm$ 0.12	0.96 $\pm$ 0.12
20:2n6*	*0.59 $\pm$ 0.04	0.53 $\pm$ 0.04	*0.40 $\pm$ 0.04
20:3n6	0.75 $\pm$ 0.04	0.63 $\pm$ 0.11	0.70 $\pm$ 0.11
22:1n9	0.14 $\pm$ 0.09	0.03 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.07
20:3n3	0.04 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.02
20:4n6*	*0.81 $\pm$ 0.05	0.94 $\pm$ 0.17	*1.21 $\pm$ 0.19
22:2n6*	*1.02 $\pm$ 0.27	*0.28 $\pm$ 0.13	0.48 $\pm$ 0.09
20:5n3	3.05 $\pm$ 0.15	2.91 $\pm$ 0.27	2.93 $\pm$ 0.18
24:1	3.81 $\pm$ 0.20	3.99 $\pm$ 0.40	4.09 $\pm$ 0.32
22:6n3	7.12 $\pm$ 0.64	8.54 $\pm$ 0.55	8.22 $\pm$ 0.94
Σ AGPI	17.42 $\pm$ 0.75	15.54 $\pm$ 0.95	16.20 $\pm$ 1.52
Σ n6	5.01 $\pm$ 0.35	4.07 $\pm$ 0.64	4.40 $\pm$ 0.51
Σ n3	12.42 $\pm$ 0.69	11.47 $\pm$ 0.62	11.80 $\pm$ 1.30

Por último para el tiempo relativo de ayuno (Tabla 17) se encontraron diferencias significativas en dos AG los cuales fueron mayores en las crías en ayuno; 17:0 (H (1, N= 24) =4.397053, p =.0360) y 17:1 (H (1, N= 24) =6.731368, p =.0095). No se encontraron diferencias para los AGPI ni para las familias n6 y n3.

Tabla 17. Concentraciones promedio de AG en grasa subcutánea de acuerdo al tiempo relativo de ayuno de las crías, expresadas en porcentaje con respecto al total de AG $\pm$ error estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas entre las categorías.

Ácido Graso	Ayuno	Recién alimentado
14:0	5.08 $\pm$ 0.29	5.16 $\pm$ 0.77
14:1	0.58 $\pm$ 0.18	0.88 $\pm$ 0.40
15:0	0.54 $\pm$ 0.07	0.39 $\pm$ 0.12
16:0 y 16:1	44.80 $\pm$ 0.88	46.59 $\pm$ 2.33
17:0*	0.55 $\pm$ 0.04	0.35 $\pm$ 0.09
17:1*	0.86 $\pm$ 0.04	0.63 $\pm$ 0.06
18:0	0.62 $\pm$ 0.14	0.68 $\pm$ 0.26
18:1n9c	22.73 $\pm$ 0.32	21.96 $\pm$ 1.03
18:2n6c	1.25 $\pm$ 0.10	1.06 $\pm$ 0.29
18:3n6	0.99 $\pm$ 0.19	1.11 $\pm$ 0.27
20:1	0.73 $\pm$ 0.07	0.88 $\pm$ 0.24
18:3n3	1.32 $\pm$ 0.51	2.16 $\pm$ 1.38
21:0	0.76 $\pm$ 0.08	0.58 $\pm$ 0.21
20:2n6	0.49 $\pm$ 0.03	0.67 $\pm$ 0.11
20:3n6	0.73 $\pm$ 0.05	0.64 $\pm$ 0.17
22:1n9	0.13 $\pm$ 0.07	0.13 $\pm$ 0.06
20:3n3	0.04 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01
20:4n6	0.97 $\pm$ 0.08	0.62 $\pm$ 0.22
22:2n6	0.82 $\pm$ 0.20	0.81 $\pm$ 0.28
20:5n3	2.94 $\pm$ 0.11	2.97 $\pm$ 0.37
24:1	3.96 $\pm$ 0.18	3.40 $\pm$ 0.52
22:6n3	7.71 $\pm$ 0.52	7.25 $\pm$ 1.45
Σ AGPI	16.76 $\pm$ 0.74	16.64 $\pm$ 1.94
Σ n6	4.77 $\pm$ 0.34	4.25 $\pm$ 0.85
Σ n3	12.00 $\pm$ 0.61	12.39 $\pm$ 1.73

Con el análisis de clasificación (Fig. 17) se observa la formación de tres grupos de crías. El primero de ellos formado por cuatro crías, el segundo por 14 y el tercero por 11. Estas crías se agrupan entre sí debido su perfil similar de AG en la grasa subcutánea. Con el análisis discriminante se obtuvo una clasificación correcta y significativa del 100% (Lambda de Wilks = 0.00174, $p < 0.0006$). En el análisis de componentes principales (Fig. 18) podemos ver la distribución espacial de estos grupos; el primer grupo en la parte superior de la gráfica corresponde a las crías que tienen un perfil de AG más enriquecido en el ácido 18:3n3, el grupo de la izquierda contiene a las crías que tienen un mayor porcentaje de los ácidos 16:0 y 16:1 y el grupo de la derecha está compuesto por las crías que presentaron los valores más

elevados del ácido 22:6n3. Los dos primeros componentes explican el 77% de la varianza, los AG que contribuyen mayormente a la separación de los grupos son el 16:0 y 16:1 y el 22:6n3 para el componente uno y el 18:3n3 para el componente dos.

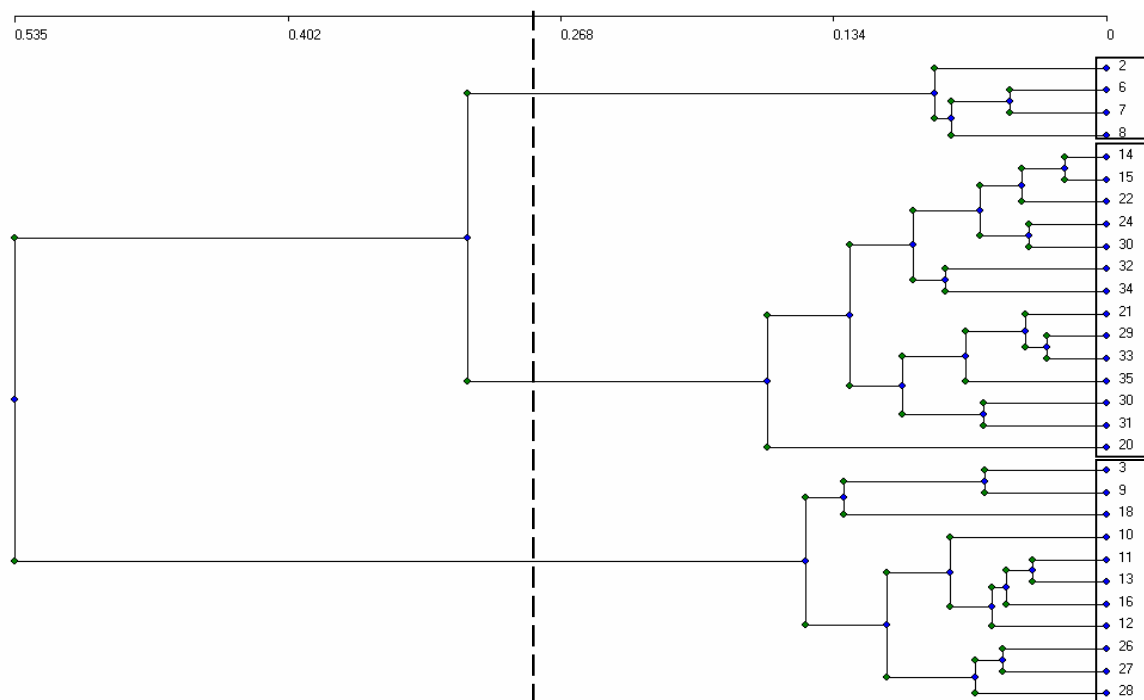


Figura 17. Dendrograma de clasificación basado en el perfil de AG de la grasa subcutánea de las crías de lobo marino. La línea punteada representa la línea de corte para la formación de los grupos.

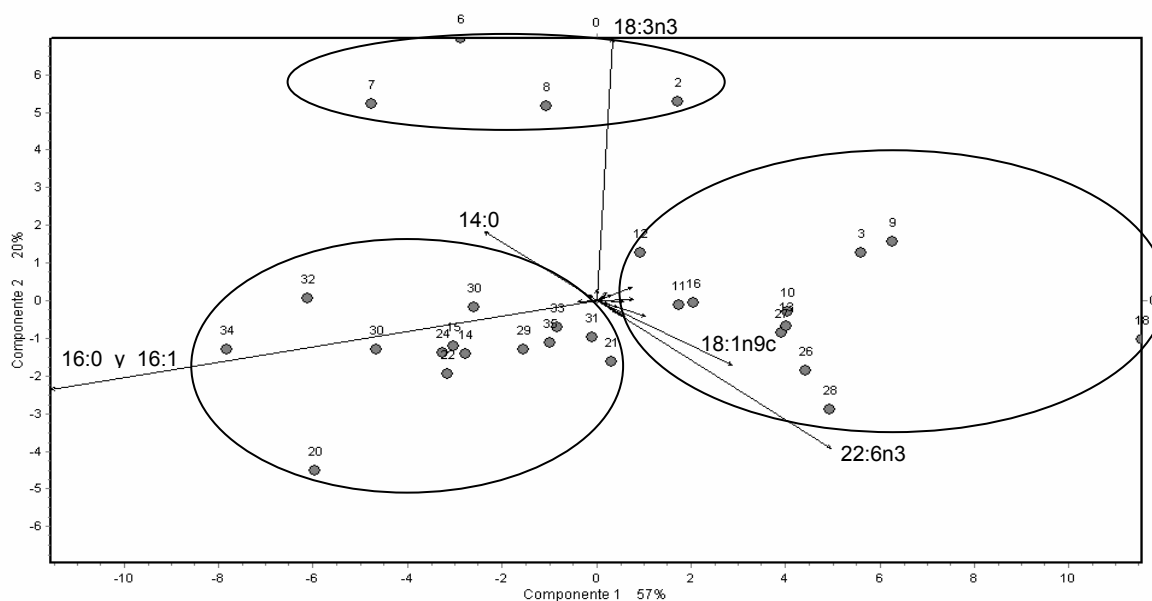


Figura 18. Análisis de componentes principales basado en el perfil de AG de la grasa subcutánea de las crías de lobo marino. Los círculos marcan los grupos formados en el análisis de clasificación.

3.5 Comparación entre perfiles de grasa subcutánea y plasma

En éste análisis se incluyeron 13 AG que fueron los que coincidieron tanto en la grasa como en el plasma. Debido a que en la grasa los ácidos 16:0 y 16:1 se reportaron juntos, no se compararon entre ambos tejidos ni tampoco el total de AGS y AGMI. Se encontraron diferencias significativas entre ambos tejidos para 10 AG, el total de AGPI y n6 (Tabla 18).

Tabla 18. Concentraciones promedio de AG expresadas en porcentajes con respecto al total de AG $\pm$ error estándar en plasma y grasa de crías de lobo marino. Los asteriscos indican diferencias significativas entre ambos tejidos.

Ácido Graso	Plasma	Grasa
14:0*	1.87 $\pm$ 0.56	5.10 $\pm$ 0.22
15:0	1.43 $\pm$ 0.47	0.51 $\pm$ 0.05
17:0	0.65 $\pm$ 0.19	0.51 $\pm$ 0.03
18:0*	2.89 $\pm$ 1.93	0.61 $\pm$ 0.10
18:1n9c*	12.77 $\pm$ 1.32	22.44 $\pm$ 0.28
18:2n6c*	2.91 $\pm$ 0.22	1.19 $\pm$ 0.08
18:3n6*	0.54 $\pm$ 0.12	1.07 $\pm$ 0.14
20:1	1.60 $\pm$ 0.59	0.75 $\pm$ 0.06
20:3n6*	43.54 $\pm$ 3.15	0.71 $\pm$ 0.04
22:1n9*	2.07 $\pm$ 0.86	0.11 $\pm$ 0.05
22:2n6*	4.30 $\pm$ 0.53	0.69 $\pm$ 0.15
24:1*	1.91 $\pm$ 0.93	3.93 $\pm$ 0.16
22:6n3*	11.77 $\pm$ 0.82	7.77 $\pm$ 0.43
Σ AGPI*	63.06 $\pm$ 3.96	16.63 $\pm$ 0.59
Σ n6*	51.30 $\pm$ 3.25	4.61 $\pm$ 0.27
Σ n3	11.77 $\pm$ 0.82	12.02 $\pm$ 0.50

Los AG 18:0 (U= 208.5, p= 0.0075), 18:2n6c (U= 18.0, p= 0.00), 20:3n6 (U= 28.5, p= 0.00), 22:1n9 (U= 181.0, p= 0.0016), 22:2n6 (U= 64.0, p= 0.00), 22:6n3 (U= 141.0, p= 0.001), los AGPI (U= 43.0, p= 0.00) y n6 (U= 14.0, p= 0.00) fueron significativamente mayores en el plasma.

Por el contrario los AG 14:0 (U= 103.0, p= 0.000007), 18:1n9c (U= 82.0, p= 0.000001), 18:3n6 (U= 199.0, p= 0.0045) y 24:1 (U= 47.0, p= 0.00) fueron mayores en la grasa.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Variabilidad en los perfiles de AG del plasma con respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno

Es sabido que los animales adultos de mamíferos marinos sexualmente dimórficos se alimentan de presas diferentes y esto se verá reflejado en el perfil de AG de sus tejidos (Beck *et al.*, 2005) sin embargo al tratarse de crías menores de un mes de edad la dieta ingerida en todos los casos es la leche materna por lo que es de esperarse que no se encuentren diferencias en los perfiles de AG con respecto al sexo de las crías.

El peso y la edad son dos variables que están íntimamente relacionadas entre sí pues el peso de las crías aumenta proporcionalmente con la edad. Que no existan diferencias con respecto a estas dos variables también es comprensible ya que los AG del plasma reflejan la dieta consumida recientemente la cual no varía con la edad ni con el peso de las crías. La única excepción que podría presentarse en este caso es si las crías se encontraran aún en el periodo perinatal donde la composición de la leche de las hembras es completamente distinta a la secretada una vez que comienzan los viajes de forrajeo (Iverson, 1993), sin embargo por los resultados obtenidos es poco probable que alguna de las crías muestreadas se encontrara aún dentro de éste periodo.

Aunque las variables anteriores no tengan un efecto directo sobre la composición de AG del plasma, el tiempo relativo de ayuno si lo tiene. Cuando una cría acaba de ser alimentada los niveles de triglicéridos y en consecuencia de AG en la sangre se incrementan (Puppione, 1983). En un estudio realizado recientemente por Cooper, *et*

al. (2005) en foca gris, se determinó que la concentración de triglicéridos en el plasma alcanza su máxima concentración de tres a seis horas después de ingerido el alimento, alrededor de las 12 horas los niveles ya son muy bajos y a las 24 horas prácticamente indetectables.

Los viajes de alimentación de las hembras de lobo marino de California tienen una duración aproximada de dos días (García-Aguilar y Auriolles-Gamboa, 2003a) tiempo en que las crías permanecen en ayuno. Durante el muestreo es muy difícil saber en qué etapa de ayuno se encuentran éstas crías y por lo tanto los valores de AG presentan una gran variabilidad.

De los tres AG que fueron mayores en las crías en ayuno el 14:0 proviene tanto de la dieta como del metabolismo por lo que su variación no puede atribuirse únicamente a si la cría se alimentó o no recientemente. Su elevada concentración en condiciones de ayuno podría deberse a que sea movilizado de los tejidos de reserva. El ácido graso 15:0 también proviene en cantidades iguales de la dieta y del metabolismo pero grandes aportes de origen dietario tienden a incrementar sus niveles en los tejidos del depredador, sin embargo al ser mayor en las crías en ayuno nos está indicando que su origen es endógeno. En un estudio realizado en crías de focas de Weddel (*Leptonychotes weddellii*), (Rea et al., 1997) se analizó la variación de los AG en el plasma durante la lactancia, el destete y el ayuno posterior al destete, observándose que algunos AG incrementan su concentración durante el ayuno y por lo tanto son indicadores de ayunos prolongados. Este podría ser el caso del 14:0 y el 15:0 en las crías de lobo marino a pesar de que el ayuno al que están expuestas no es tan prolongado como el de las crías de los focidos.

Un caso particular se presenta con el ácido graso 18:2n6 que también fue mayor en las crías en ayuno pero contrario a los casos anteriores éste es un ácido graso esencial y proviene únicamente de la dieta por lo que era de esperarse que sus concentraciones fueran mayores en las crías recién alimentadas.

La explicación a este fenómeno puede encontrarse en el metabolismo y los mecanismos de transporte de los lípidos en la sangre. Las lipoproteínas del plasma son las encargadas de transportar los lípidos en la sangre y se diferencian entre sí por su densidad y por el tipo de lípido que transportan. Los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad, VLDL, por sus siglas en inglés, son los encargados de transportar los triglicéridos. Los quilomicrones están compuestos en su mayoría por triglicéridos de origen dietético y una porción de fosfolípidos. Las VLDL transportan los triglicéridos de origen endógeno (Gurr y Harwood, 1991).

Separar ambas proteínas resulta extremadamente difícil ya que sus densidades son muy cercanas y es imposible aislar una sin tener contaminación de la otra (Cooper *et al.*, 2005). Algunos AG contenidos en las VLDL se sintetizan en el hígado, sin embargo otros derivan de la lipólisis de los triglicéridos de los tejidos adiposos (Gurr y Harwood, 1991) y es aquí donde podemos encontrar la causa de que el ácido graso 18:2n6c esté más elevado en las crías en ayuno pues su concentración total en el plasma estará dada por los triglicéridos provenientes de la dieta más los contenidos en las VLDL de origen endógeno es decir de las reservas de grasa. Esto concuerda con lo encontrado por Rea *et al.*, (1997) donde se observó una liberación preferencial de los AGPI contenidos en las reservas de grasa durante el ayuno, y en éste caso por tratarse de un ácido graso esencial es lógico pensar que se libere preferencialmente de los depósitos de grasa para ser utilizado para las diversas funciones metabólicas del organismo.

Otras fuentes endógenas de AG además de las reservas son los AG no esterificados y los remanentes de los quilomicrones los cuales se asocian con los fosfolípidos de los nuevos quilomicrones enriqueciéndolos en ciertos AG como el 18:0, 20:4n6 y 20:5n3 (Cooper *et al.*, 2005).

Por último el ácido graso 20:3n6 fue mayor en las crías recién alimentadas, éste resultado no sorprende al tratarse de un ácido graso proveniente casi en su totalidad de la dieta.

Pasando a los grupos de AG y familias; el total de AGS fue mayor en las crías en ayuno lo que concuerda con el resultado anteriormente mencionado pues los AG 14:0 y 15:0 son AGS y también fueron mayores en las crías en ayuno. Por otra parte el total de AGPI así como los n6 fueron mayores en las crías recién alimentadas debido al ácido graso 20:3n6 que se encuentra muy sobre estimado y que constituye más del 50% de la composición del plasma de las crías recién alimentadas por lo que era de esperarse que los resultados se sesgaran de esta forma.

En los análisis multivariados los perfiles de AG del plasma denotan la formación de dos grupos de crías, sin embargo no se observan dos grupos como tales, más bien lo que resalta son cuatro crías (7, 8, 11 y 17) que se separan del resto debido a que tienen características muy particulares en sus perfiles de AG. La cría 7 presentó el menor nivel de triglicéridos en la sangre y únicamente se detectaron 7 AG en su plasma por lo que pudiera haberse encontrado en condiciones un poco extremas de ayuno y por eso tener una composición tan distinta. Las crías 8 y 11 fueron las menos pesadas y más jóvenes con una semana de edad aproximadamente, por lo que podría pensarse que aún se encontraran en el periodo perinatal, sin embargo la cría número 17 se encuentra al lado de la 8 lo que nos indica que tienen un perfil de AG similar. La cría 17 tenía más de una semana de edad por lo que es muy probable que hubiese pasado el periodo perinatal con esto se debilita la idea de que los perfiles de AG de las crías varíen en función de éste factor, de otro modo las tres crías se encontrarían juntas en la gráfica y serían menores de una semana de edad.

La variabilidad observada en el plasma se debe principalmente a los distintos estados de ayuno en los que se encontraban las crías, lo cual se suma a la gran variación individual que existe en el análisis de AG. El plasma al ser un tejido altamente dinámico, refleja la dieta ingerida unas horas antes. Por esta razón el plasma no es un tejido muy adecuado para analizar variaciones en la dieta pues es muy difícil saber en que momento de ayuno se encuentran los animales al momento del muestreo.

4.2 Variabilidad en los perfiles de AG de la grasa subcutánea con respecto al sexo, peso, edad y tiempo relativo de ayuno

Al igual que en el plasma era de esperarse que no se encontraran diferencias en ningún ácido graso con respecto al sexo pues como ya se explicó anteriormente todas las crías se alimentaron de leche materna.

Los AG 17:0 y 17:1 que se depositan en la grasa son de origen metabólico y dietario en proporciones iguales. Sin embargo ésta variación difícilmente está relacionada al estado de ayuno de las crías pues la grasa es un tejido mucho más estable que el plasma y refleja la dieta a largo plazo, es decir semanas ó meses (Cooper *et al.*, 2005). Para que la condición de ayuno afectara el perfil de AG de la grasa las crías tendrían que pasar largos periodos de tiempo sin alimentarse (mayores a los de los viajes de forrajeo de las madres) de manera que existiera una movilización exhaustiva de las reservas de grasa y así cambiara el perfil. Por otra parte estos dos AG no se encontraron en proporciones muy elevadas; 0.5% para el 17:0 y 0.8% para el 17:1 además de que no aportan datos de la dieta exclusivamente por lo que si llegaran a causar variación en los resultados podrían eliminarse del análisis sin afectar de manera drástica la información sobre la dieta.

Cómo se puede observar en las tablas 10 y 11 existe una gran variación en las firmas de AG de las crías relacionada a la edad y al peso. En el caso del peso los cuatro AG que se señalan fueron diferentes entre las crías menos pesadas (6.9 a 10 kg) y las de peso medio (10.1 a 13 kg). Con relación a la edad, cinco de los siete AG difirieron entre las crías más jóvenes (menores de una semana de edad) y las más grandes (mayores de dos semanas de edad). Lo anterior sugiere que en la mayoría de los casos las crías más pequeñas y menos pesadas tienen una composición de AG diferente a la de las crías medianas y grandes ó que tal vez el perfil de AG va cambiando con la edad.

Es sabido por estudios como el de Arnould (1999) en el lobo fino australiano (*Arctocephalus pusillus doriferus*) que la composición de la leche de los pinnípedos varía a lo largo de la lactancia. El lobo fino australiano tiene una lactancia de 12 meses y el contenido de lípidos en la leche es diferente a lo largo de este periodo. En los primeros días de lactancia los lípidos constituyen alrededor del 30% de la leche, a los 230 días aumentan a 50% y disminuyen a 45% a los 330 días. Si la cantidad de lípidos en la leche varía es de esperarse que también lo hagan los AG que los constituyen. Sin embargo lo anterior no sería la causa de la variación observada en las crías de lobo marino de California pues todas las crías son menores al mes de edad, tiempo en el que no se esperaría ver cambios drásticos en la composición de la leche de las hembras exceptuando la del periodo perinatal.

Como ya se mencionó, la grasa subcutánea ofrece información de lo que la cría se alimenta en un periodo de semanas atrás. En este caso el muestreo se llevó a cabo por medio de una liposucción en la que se muestrea toda la capa de grasa sin tener en cuenta la estratificación que pudiera existir en esta.

La estratificación en la capa de grasa ha sido ampliamente estudiada en cetáceos y se ha observado que las distintas capas proporcionan información de diferentes momentos en la alimentación del animal (Hooker *et al.*, 2001). Este fenómeno es menos marcado en los pinnípedos pero sin embargo debe tenerse en cuenta para un análisis de dieta. Best, *et al.* (2002) compararon y analizaron la composición de AG de la capa interna y externa de la grasa de elefantes marinos del norte (*Mirounga leonina*), observándose diferencias entre ambas capas en los AGS y AGPI y en los ácidos 18:0, 24:1n11 y 22:1n11.

La capa interna está en constante estado de flujo por lo que tendrá una tasa de recambio más alta y la capa externa al ser más estable es más representativa de la dieta a largo plazo (Hooker *et al.*, 2001).

La explicación anterior tiene como objetivo resaltar que debido a que se muestreó toda la capa de grasa, ésta reflejará el alimento recientemente consumido así como los AG transmitidos a la cría en los últimos días de gestación y los de la leche del periodo perinatal, obviamente éste efecto se verá más marcado en las crías menos pesadas y más jóvenes que aún tengan la firma de éstos periodos en su grasa.

Sin embargo es importante resaltar que éste efecto se observó en 10 de los 23 AG analizados y que seis de éstos 10 ácidos tienen aportes importantes del metabolismo. Por lo que la variación en los perfiles de AG referente a la edad ó al peso de las crías y a la estratificación de la capa de grasa únicamente se aplicaría para cuatro AG.

Como hemos visto en los resultados cada AG tiene innumerables fuentes de variación por lo que es difícil obtener conclusiones basándose en el comportamiento individual de éstos.

Los análisis multivariados permiten obtener información de todos los AG simultáneamente lo cual será mucho más explicativo de la dieta y reduce la variación individual (Grahl-Nielsen *et al.*, 2003).

En los análisis de clasificación y ordenación se observa la formación de tres grupos de crías que son similares en su perfil de AG. Las crías contenidas en estos grupos en ningún caso tuvieron una relación con las variables aquí exploradas, es decir no se agruparon dependiendo de su sexo, peso, edad ó nivel de triglicéridos en la sangre. Lo que sugiere que los AG que fueron diferentes entre estas categorías no tuvieron un peso muy importante ya que se analizan todos en conjunto.

Esta ordenación puede atribuirse a que la composición de la leche de sus madres es diferente y por lo tanto las hembras podrían diferir en dietas que se reflejen en la composición de la leche. Esto se explica con más detalle en el capítulo tres.

4.3 Comparación entre perfiles de grasa subcutánea y plasma

Como última parte de éste capítulo se realizó la comparación entre ambos tejidos encontrándose resultados congruentes: de los 13 AG analizados 10 fueron significativamente diferentes entre ambos tejidos. Los AGPI así como el total de n6 fueron mayores en el plasma pero esto es una vez más consecuencia de la elevada concentración de ácido 20:3n6.

Con lo anterior se confirma que el plasma y la grasa son tejidos con composición de AG muy diferente, pues el plasma refleja la dieta inmediata mientras que la grasa subcutánea refleja la dieta de semanas ó meses atrás, además del hecho de que cada ácido graso se deposita de manera diferencial en el tejido adiposo (Iverson *et al.*, 2004).

Para el caso del plasma la principal variación estará determinada tanto por la composición de AG del último alimento como por las horas que hayan transcurrido a partir de este evento. En el caso de la grasa las variaciones observadas pueden depender más directamente de cambios en la dieta debido a que la tasa de recambio es más lenta en comparación con la del plasma (Cooper *et al.*, 2005).

V. CONCLUSIONES

La variabilidad observada en el plasma se relacionó principalmente al tiempo relativo de ayuno en el que se encontraban las crías al momento del muestreo.

Los AG del plasma no mostraron una agrupación que pueda ser atribuida a diferencias en la dieta, más bien se observó una gran variación individual debida en gran parte a factores metabólicos.

La grasa subcutánea presentó mayor variación en ciertos AG, que parece asociarse al peso y edad de las crías sin embargo este efecto se ve disminuido al analizar todos los AG en conjunto.

El perfil de AG de la grasa subcutánea de las crías puede ser útil para detectar diferencias en la dieta pues el efecto del ayuno parece ser bajo al menos en ayunos normales (1-3 días) a los que las crías se ven expuestas por los viajes de alimentación de sus madres.

Los perfiles de AG de la grasa subcutánea formaron tres grupos de crías que pueden atribuirse a diferencias en la dieta de sus madres

El plasma y la grasa subcutánea tienen una composición distinta de AG debido a las características de cada tejido, pues el plasma ofrece información sobre la dieta inmediata mientras que la grasa refleja el historial alimentario a varias semanas atrás.

CAPÍTULO 3

POTENCIAL DE LA COMPOSICIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN CRÍAS DE LOBO MARINO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE DIETAS DENTRO DE LA POBLACIÓN

I. INTRODUCCIÓN

En el capítulo anterior se llegó a la conclusión de que la grasa subcutánea es la que tiene un mayor potencial para poder identificar dietas dentro de una población, en este caso la lobería de Los Islotes.

Por numerosos estudios de excretas que se han realizado en ésta colonia, se sabe que la dieta a lo largo de los años es muy diversa (un gran número de especies), pero a la vez muy homogénea ya que las presas principales tienden a mantenerse en el tiempo (Aurioles-Gamboa, 1984; García-Rodríguez, 1995; Orr 1998, Samaniego-Herrera 1999 y Cárdenas-Palomo, 2003), lo que hace suponer que tal vez los animales de ésta lobería tengan estrategias de alimentación definidas.

El análisis de AG de la grasa subcutánea de las crías reveló la existencia de tres dietas diferentes. Partiendo de ésta base es de gran interés y relevancia analizar si la diferenciación de perfiles de AG está ligada a una diferenciación de dietas en la lobería Los Islotes.

Además del análisis de AG se pueden utilizar diferentes herramientas para estudiar la dieta de los mamíferos marinos como son; el análisis de excretas, los isótopos estables y el marcaje satelital. Cada una de éstas aproximaciones proporciona información diferente y complementaria que permite llegar a conclusiones más robustas. Diversos estudios (Herman *et al.*, 2005; Lea *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 1996; y Staniland *et al.*, 2005) demuestran que emplear varios métodos

para estudiar los hábitos alimentarios de los mamíferos marinos arrojan resultados más precisos en comparación con los obtenidos utilizando una sola aproximación.

En este capítulo se exploran cuatro metodologías distintas con la finalidad de examinar de manera más completa las estrategias alimentarias de los lobos marinos de la colonia Los Islotes.

II. METODOLOGÍA

2.1 Área de estudio

El área de estudio es la colonia reproductora de Los Islotes cuyas características fueron explicadas en el capítulo anterior.

2.2 Marcaje satelital

Se aprovecharon los datos obtenidos por Kunh, *et al.* (2004) relativos al marcaje satelital de seis hembras adultas de Los Islotes durante el periodo de abril a junio del 2003. Cada animal instrumentado con un transmisor satelital, envió información de su posición en el mar durante sus viajes de alimentación. Debido a que no hay datos de buceo que se puedan comparar con los datos satelitales no es posible saber en cuáles localidades se alimentaron durante el viaje, sin embargo una vez obtenidas muchas posiciones de cada animal y los animales en conjunto, se puede lograr un mapa de localidades que pueden reflejar las áreas de forrajeo preferidas por cada hembra y por todas en general (Kunh *et al.*, 2004).

2.3 Análisis de excretas

Para este estudio se utilizó una base de datos proveniente de un muestreo de 11 meses, de mayo de 2000 a abril 2001 (Cárdenas-Palomo 2003). Sólo se utilizaron las muestras pertenecientes a las zonas A y B donde las hembras son la categoría

más abundante, aproximadamente el 60% de los individuos, (Issa-Cabrera, 2006), el motivo de lo anterior fue tratar de estandarizar el muestreo a una sola categoría de edad para disminuir la variabilidad.

En total se analizaron datos de 61 excretas; 20 recolectadas durante el verano, 16 en otoño, 16 en invierno y nueve en primavera. Éste análisis se basa en la identificación de partes duras (otolitos y picos de cefalópodos) recuperados en los copros mediante tamizado. Una vez determinada la identidad de las especies presentes en cada excreta se calculó el Índice de Importancia IIMP propuesto por García-Rodríguez (1999), este índice se basa en los supuestos de que las presas encontradas en cada copro representan el cien por ciento del alimento consumido y como cada copro tiene la misma probabilidad de ser elegido, todos los individuos de esa zona están representados en el muestreo. El índice se designa de la siguiente forma:

$$IIMP_i = \left(\frac{1}{U} \right) \sum_{j=1}^U \frac{x_{ij}}{X_j}$$

Donde:

x_{ij} = Número de observaciones del taxón i en el copro j

X_j = Número de estructuras totales identificables en el copro j

U = Número de unidades de muestreo ó copros sobre los cuales se contabilizaron las apariciones

Calculando este índice se determinaron las presas que fueron más importantes durante el periodo de muestreo y se trabajó con aquellas que tuvieron un IIMP mayor a 3%.

Cada excreta se trató como una unidad de muestreo independiente y se asume que pertenece a un individuo distinto. En cada caso se calculó la proporción de cada presa según el número de otolitos de cada especie presentes en la muestra.

Una vez conformada la base de datos los valores se transformaron con raíz de arcoseno para darle el mismo peso a todas las variables, ya que ésta transformación es la más adecuada para normalizar valores que se encuentren en proporciones ó porcentajes (Zar, J. H., 1996). Se realizaron dos tipos de análisis multivaridos. El primero fue por especies utilizando la unión completa y la distancia de Manhattan, siendo esta combinación la que proporcionó un resultado más lógico basándonos en los estudios de alimentación en esta colonia. La finalidad del análisis fue determinar que tipo especies se unían entre sí y si éstas se agrupan en conjuntos que se puedan denominar como “dietas” y basándonos en éste supuesto se determinó el nivel de corte para la formación de los grupos. El segundo análisis fue de componentes principales por individuos para determinar la proporción de los animales con preferencia por cada una de las dietas encontradas en el análisis de clasificación.

2.4 Análisis de ácidos grasos

La metodología correspondiente al análisis de AG se explicó en el capítulo número dos, por lo que en el presente capítulo sólo se retomarán los resultados de los análisis multivariados realizados con la grasa subcutánea de las crías.

2.5 Análisis de isótopos estables

Durante junio y julio del 2003 se muestreó pelo a 72 crías de las tres zonas de la lobería al cual se le determinó su composición de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (Aurioles-Gamboa, datos sin publicar). El análisis isotópico en pelo de lobos y focas ha resultado ser de gran ayuda para determinar diferencias entre poblaciones y colonias (Porrás-Peters, 2004; Aurioles *et al.*, 2006). En este caso se utilizaron los valores isotópicos de carbono y nitrógeno, para explorar la posible existencia de dietas distintas dentro de la misma colonia. Ambos valores de cada cría se graficaron para detectar posibles diferencias, particularmente del $\delta^{13}\text{C}$ como indicativo de diferentes hábitos alimentarios en las madres de éstas crías.

III. RESULTADOS

3.1 Marcaje satelital

En la siguiente figura (Fig. 19) se muestran las posiciones satelitales de las hembras durante los viajes de alimentación.

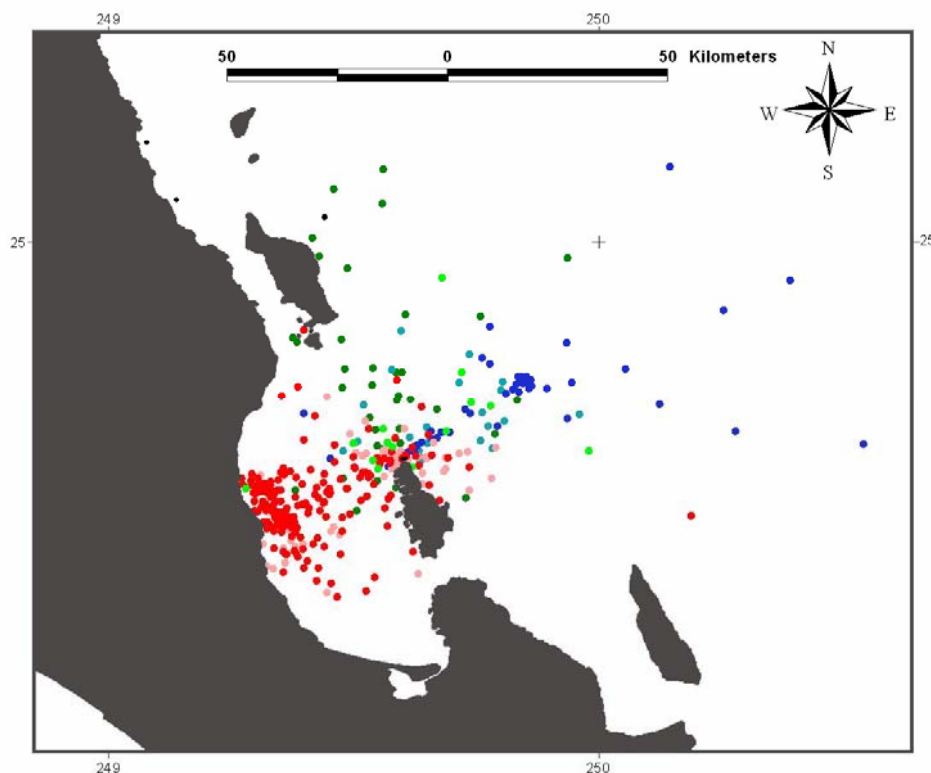


Figura 19. Posiciones satelitales de seis hembras de lobo marino de California durante sus viajes de alimentación. Cada color representa una hembra distinta.

Cada color corresponde a un hembra diferente y cada punto representa una posición satelital durante el viaje de alimentación. La hembra marcada en color rojo tuvo el record más largo, de abril a junio, periodo en el que realizó 13 viajes de alimentación 11 de los cuales fueron a un área muy similar a lo largo de la costa dentro de la Bahía. Para las hembras restantes sólo se registraron de dos a cuatro viajes sin embargo en todos los casos fueron hacia zonas específicas lo que sugiere cierta fidelidad hacia las zonas de alimentación. Cabe resaltar que la mayoría de los

viajes de alimentación se registraron dentro de un radio no mayor a 30km lejos de la colonia (Kuhn *et al.*, 2004).

Partiendo de los datos registrados, Kuhn, *et al.*, (2004), determinaron tres zonas principales de forrajeo (Fig. 20) basándose en la dirección en la que las hembras viajaron fuera de la colonia. Las regiones fueron delimitadas utilizando un análisis de rangos dirigidos de Kernel.

La primera de ésta zonas, marcada en amarillo, es costera hacia el Oeste de la colonia, la segunda en azul abarca todo alrededor de la colonia y la tercera en verde es más oceánica hacia el Este de la colonia.

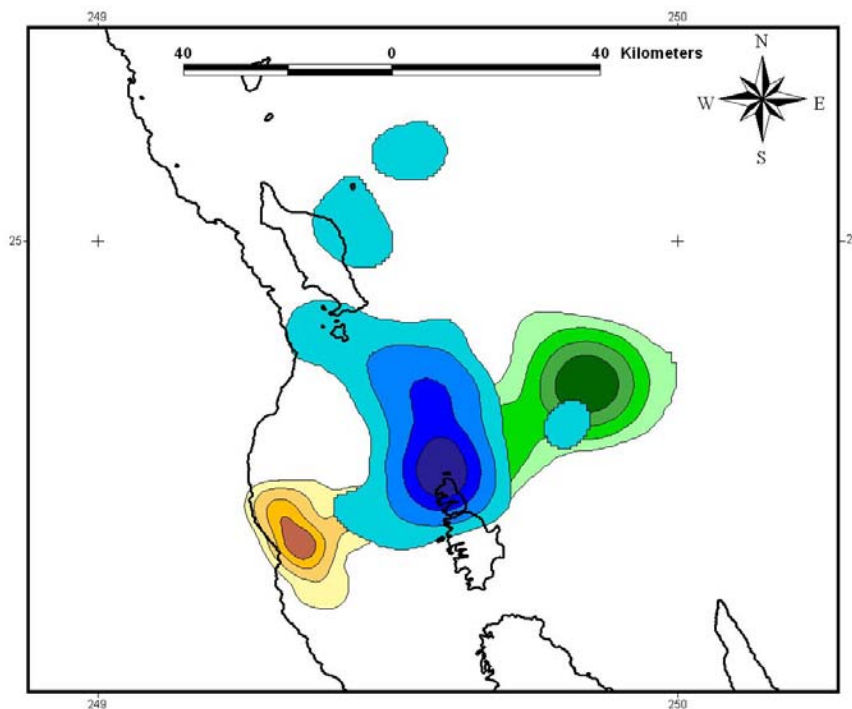


Figura 20. Principales zonas de forrajeo de las hembras de Los Islotes en abril de 2003, cada color indica una zona de alimentación distinta.

3.2 Análisis de excretas

Se registró un número grande de presas, pero se seleccionaron sólo aquellas que tuviesen un IIMP mayor al 3%, lo cual resultó en 10 preferenciales. (Tabla 19). La presa dominante fue *Serranus aequidens* seguida de *Aulopus* sp. y *Pronotogrammus multifasciatus*.

El análisis de clasificación para las especies (Fig. 21) reveló la formación de cuatro grupos ó posibles dietas. La primera dominada por una especie del género *Aulopus* y la especie *Pronotogrammus multifasciatus*. Una segunda mucho más diversa compuesta por seis presas y las dos restantes dominadas por una especie cada una; *Pronotogrammus eos* y *Serranus aequidens* respectivamente.

Tabla 19. Presas con el mayor porcentaje de importancia (IIMP) para la colonia de Los Islotes de mayo de 2000 a abril de 2001.

Presa	%IIMP
<i>Serranus aequidens</i>	22
<i>Aulopus</i> sp.	9
<i>Pronotogrammus multifasciatus</i>	8
<i>Pronotogrammus eos</i>	7
<i>Porichthys notatus</i>	6
<i>Hemanthias</i> sp.	5
<i>Diplectrum macropoma</i>	4
<i>Sardinops sagax</i>	4
<i>Haemulopsis</i> sp.	3
<i>Opisthonema</i> sp.	3

En el análisis de ordenación para los individuos (Fig. 22) podemos observar el patrón espacial según las presas que fueron dominantes en la dieta. La varianza explicada por los dos primeros componentes fue de 43%. Las presas que contribuyen a la separación en el componente uno fueron *Serranus aequidens* y las dos especies de *Pronotogrammus*, mientras que para el componente dos, fueron *Aulopus* sp. y *Pronotogrammus eos*.

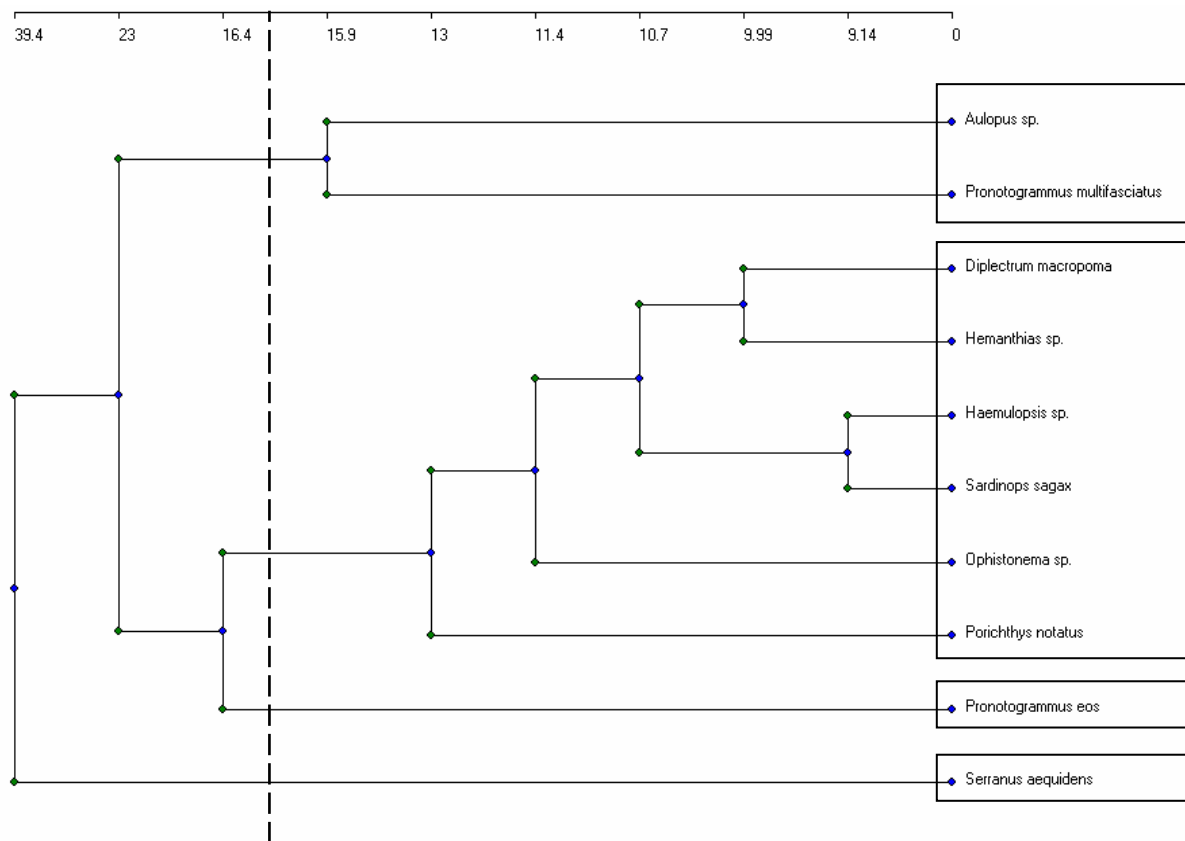


Figura 21. Dendrograma de clasificación de las 10 especies más importantes en la lobería de los Islotes de junio de 2000 a marzo de 2001. La línea punteada representa el nivel de corte para la formación de los grupos.

La dieta dominada por *Aulopus sp.* y *Pronotogrammus multifasciatus* se marca en color verde y fue consumida por el 21% de los individuos. Los individuos en color rojo corresponden a la dieta dominada por *Serranus aequidens*, éstos animales representan el 41% de la población muestreada. Los círculos amarillos (28%) pertenecen a los individuos con la dieta más diversa y por último los animales (en azul) que tuvieron una dieta dominada por *Pronotogrammus eos* constituyeron el 10% restante.

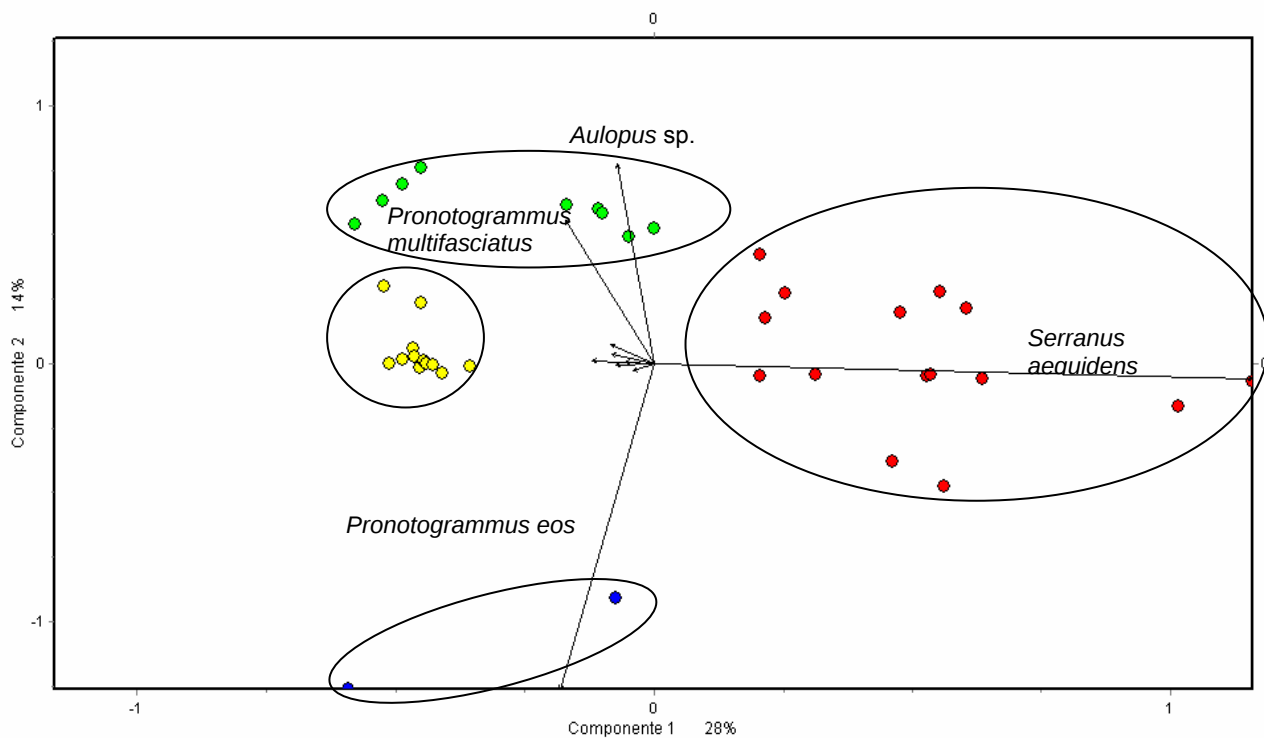


Figura 22. Análisis de componentes principales por individuos de acuerdo a las presas dominantes en su dieta. Los círculos marcan las dietas encontradas en el análisis de clasificación.

3.3 Análisis de ácidos grasos

Uno de los resultados más destacados del capítulo dos refiere que los perfiles de AG en la grasa subcutánea de las crías constituyeron tres grupos. Cada uno de estos grupos podría atribuirse a una dieta diferente dentro de la colonia ya que las crías no se agruparon en relación al sexo, peso, edad, ni al tiempo de ayuno. Con el fin de hacer esta representación más práctica, se muestra nuevamente la figura 18.

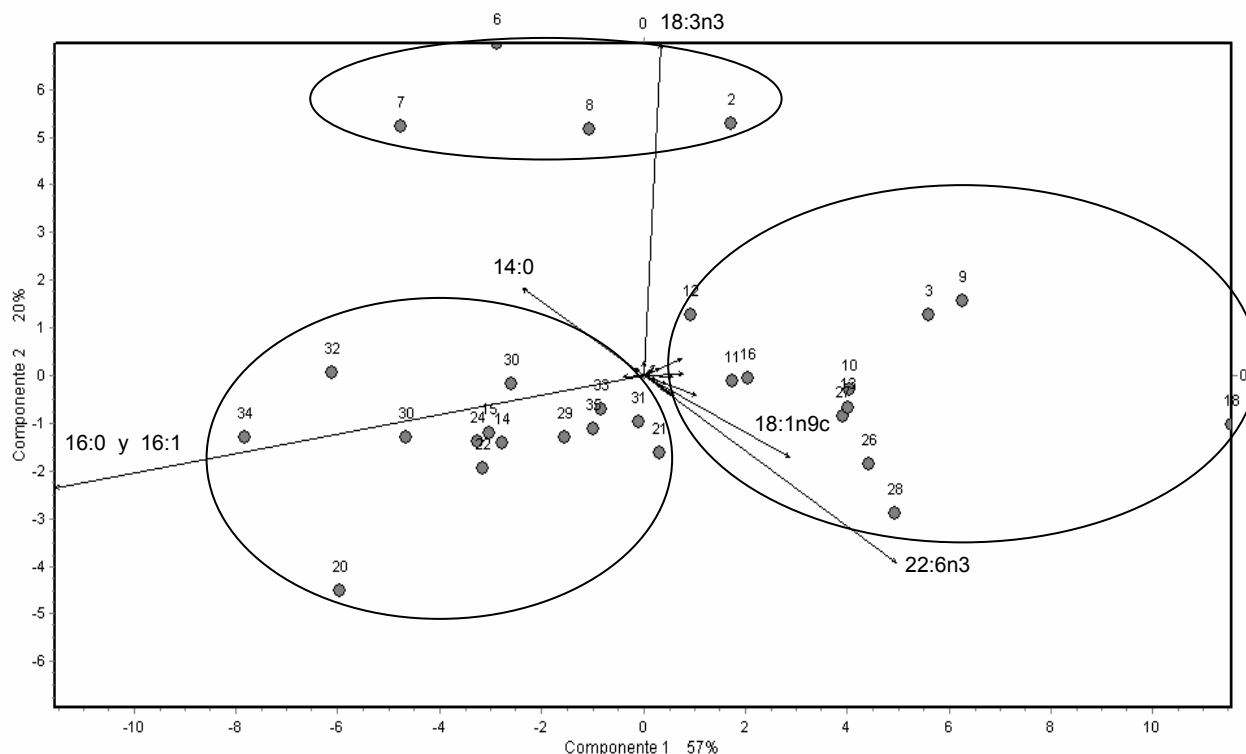


Figura 18. Análisis de componentes principales basado en el perfil de AG de la grasa subcutánea de las crías de lobo marino. Los círculos marcan los grupos formados en el análisis de clasificación.

3.4 Análisis de isótopos estables

De las 72 crías muestreadas 27 pertenecían a la zona A, 28 a la zona B y 17 a la zona C, el primer análisis exploratorio que se realizó fue graficar cada cría con sus valores correspondientes de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ tomando en cuenta el área a la que pertenecían (Fig. 23). Esto se realizó con la finalidad de ver si los valores isotópicos presentaban variación según de la zona en la que se encontraban las crías, pues se pensaba que los animales de las distintas zonas podrían estar alimentándose en lugares diferentes ó de presas distintas.

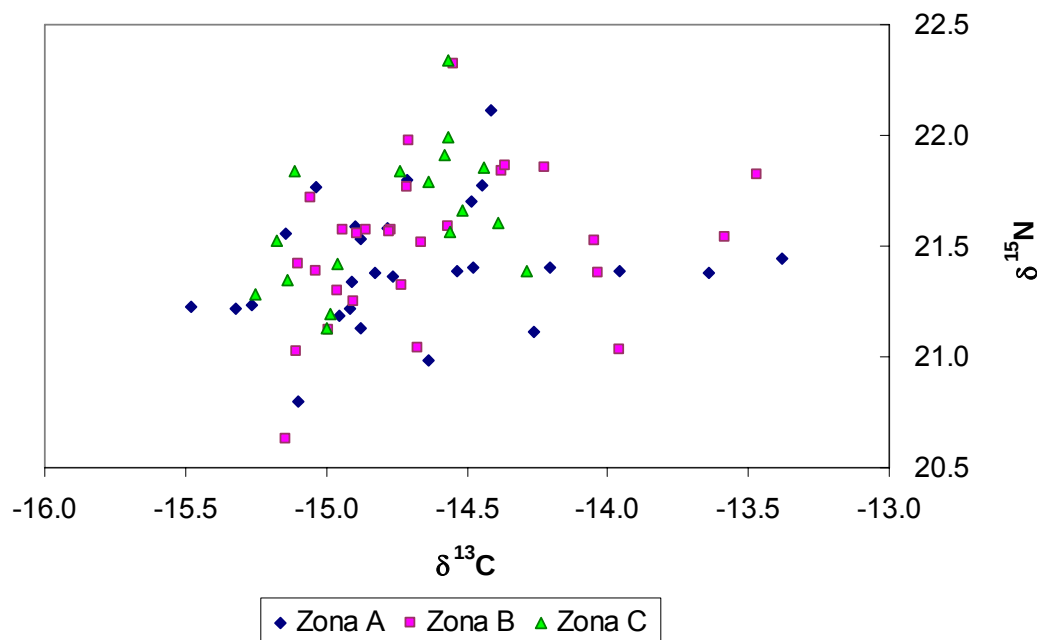


Figura 23. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ expresados en ‰ medidos en pelo de crías de lobo marino de la colonia de Los Islotes. Cada zona está representada por un color y forma diferente.

Cómo podemos observar en la gráfica los valores isotópicos son bastante homogéneos entre las crías de las 3 zonas y casi todas se encuentran en un rango de 1‰ para el $\delta^{15}\text{N}$ (21.0 a 22.0 ‰) y de 1.5 ‰ para el $\delta^{13}\text{C}$ (-15.5 a -14.0‰) . Sin embargo se observa un grupo de 4 crías (dos de la zona A y dos de la zona B) que se separa un poco del resto ya que tienen valores más enriquecidos en el $\delta^{13}\text{C}$ (-13.5‰), lo cual nos indica que las variaciones son independientes de la zona de muestreo.

Para observar esto de una manera más clara se promediaron los valores de estas cuatro crías y los del resto para compararlos entre sí (Fig. 24) y así obtener dos grupos de crías. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ siguieron siendo bastante homogéneos pero para el $\delta^{13}\text{C}$ se observó una clara separación de casi 1.5‰. Para comprobar que esta diferencia fuera significativa se aplicó una prueba de U de Mann-Whitney obteniendo una $p= 0.000002$. Hablando en términos de proporciones, el primer grupo de crías corresponde al 94.5% de los individuos y el segundo al 5.5% restante.

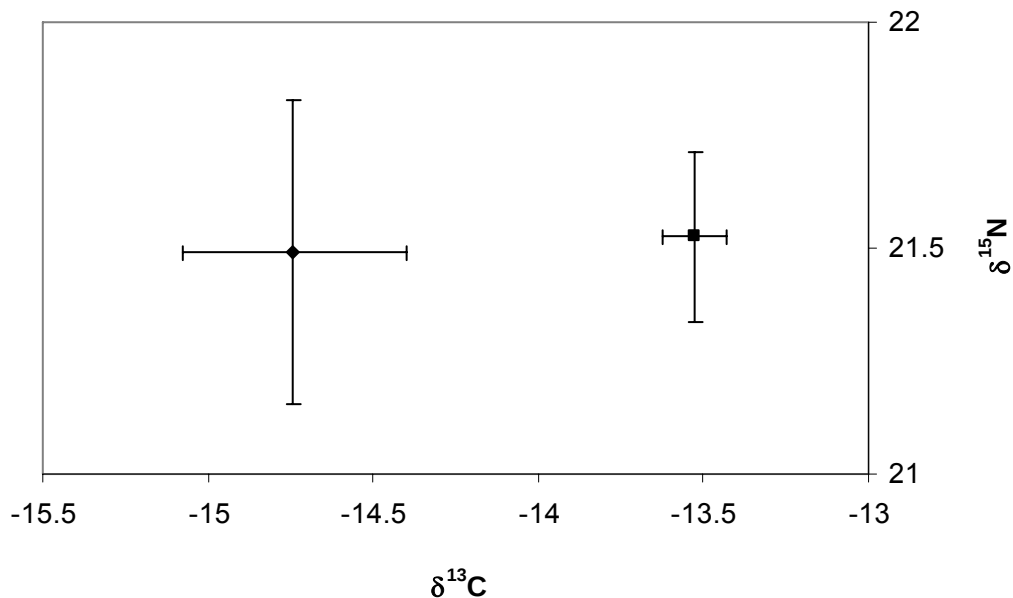


Figura 24. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (promedio $\pm$ desviación estándar en ‰) de los dos grupos de crías de lobo marino de la colonia de Los Islotes.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Telemetría satelital

Las tres zonas de alimentación encontradas por telemetría satelital pueden estar relacionadas con la distribución de las presas dentro de la bahía. A excepción de las dos especies de sardina, (*Sardinops sagax* y *Opisthonema* sp.) las presas restantes de las que se alimentaron los lobos marinos durante el periodo de estudio carecen de importancia comercial, por lo que no existe mucha información disponible sobre su distribución y abundancia en el área. Sin embargo otro tipo de estudios como la distribución de las larvas de peces y la circulación en la misma zona pueden ayudar a explicar éste fenómeno.

Sánchez-Velasco *et al.*, (2006) realizó un estudio de asociaciones de larvas de peces en relación a la circulación geostrofica en la Bahía de La Paz. El muestreo

comprendió los meses de mayo, julio y octubre del 2001 y febrero del 2002. El marcaje satelital de las hembras se realizó de los meses de abril a julio por lo que es posible hacer una inferencia sobre los meses de mayo y julio.

Dependiendo de la composición de especies y de la localización se designan tres tipos de asociaciones; la oceánica, la costera y la transicional oceánica (Fig. 25).

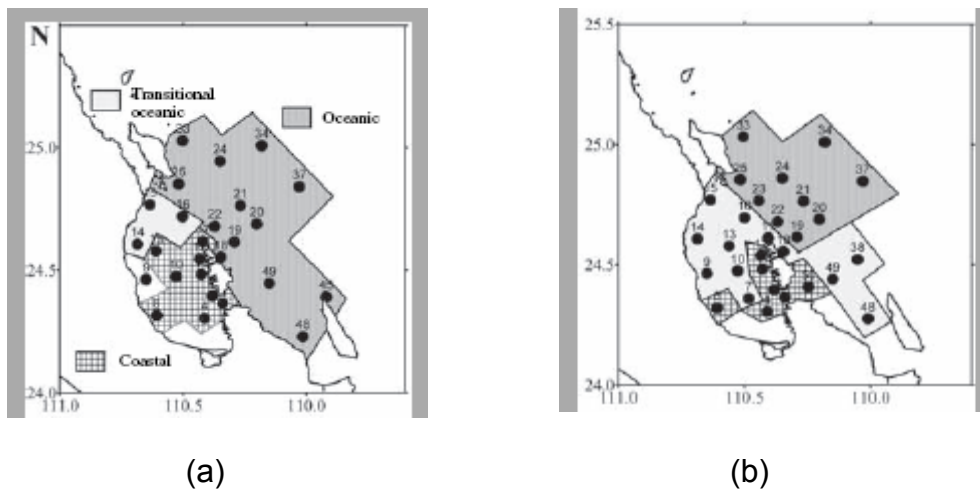


Figura 25. Distribución de las asociaciones de larvas de peces en la Bahía de La Paz durante mayo (a) y julio (b) del 2001. El tono blanco corresponde a la zona transicional oceánica, el gris a la oceánica y la cuadrícula a la costera. Tomado de Sánchez-Velasco *et al.*, (2006).

Durante el mes de mayo la asociación costera abarca gran parte de la bahía y se restringe a la parte sur durante julio. La asociación oceánica cubre toda la zona oceánica en mayo y la parte norte en julio. Por último la asociación transicional oceánica se localizó en el Noroeste de la bahía y durante julio cubre una gran parte de ésta. Esta variación está asociada a cambios en la circulación a través de la boca principal de la bahía.

El hallazgo anterior es relevante pues durante el mes de mayo la distribución de las asociaciones de larvas de peces coincide con las zonas de alimentación de los lobos marinos. Estas asociaciones de ictioplancton pueden ser un indicador de ambientes diferentes además de que representan una fuente importante de alimento para muchas especies de peces en el área, algunas de las cuáles podrán ser presas

del lobo marino, por lo que es posible suponer que ésta situación afecte la distribución y abundancia de las presas y por lo tanto los viajes de alimentación de los lobos de acuerdo a sus preferencias individuales. Si las zonas definidas por el ictioplancton reflejan áreas de alimentación para los lobos marinos, es algo que está por determinarse, sin embargo la definición de ambientes por el ictioplancton puede ayudar a explicar por qué los lobos marinos usan ciertas áreas para su alimentación.

4.2 Análisis de excretas

En relación al análisis de excretas tendríamos cuatro posibles dietas para la colonia de los Islotes. La mayor parte de la población muestreada (41%) tiene una dieta que es dominada por la especie *Serranus aequidens*. La dieta que le siguió en cuanto a número de individuos fue la que presentó mayor diversidad, seguida de otra dieta dominada por *Aulopus* y *Pronotogrammus multifasciatus*. Finalmente una cuarta dieta estuvo dominada por la especie *Pronotogrammus eos* que agrupó al 10% de los individuos. Este resultado es interesante desde el punto de vista de la conducta de los animales, ya que implica que algunas presas se encuentran en la misma localidad de forrajeo, ya que de otro modo sería difícil entender en términos energéticos, un comportamiento en el que un lobo marino se alimente de cierta presa en un lugar y luego recorra una gran distancia para consumir otra presa distinta en otra zona.

La idea anterior puede quedar más clara si analizamos el tipo de hábitat en el que se encuentra cada una de las presas y que se muestra en la Tabla 20.

Tabla 20. Hábitat de las presas principales del lobo marino durante el periodo del estudio.

Nombre científico	Nombre común	Hábitat
<i>Aulopus</i> sp.	Lagarto del Pacífico Oriental	Demersal 82-230m
<i>Pronotogrammus multifasciatus</i>	Serrano бага	Demersal 40-200m
<i>Diplectrum macropoma</i>	Serrano mexicano	Demersal 9-80m
<i>Hemanthias</i> sp.	Cabrilla doblecola	Pelágico 20-120m
<i>Haemulopsis</i> sp.	Ronco	Demersal
<i>Sardinops sagax</i>	Sardina monterrey	Pelágico 0- 200m
<i>Opisthonema</i> sp.	Sardina crinada	Pelágico 0-50 m
<i>Porichthys notatus</i>	Charrito	Demersal 0-366m
<i>Pronotogrammus eos</i>	Serrano ojón	Batidemersal 155-325m
<i>Serranus aequidens</i>	Serrano de agua profunda	Demersal profundo

Tomado de Fishbase (2006).

Como podemos observar, de las presas que componen la primera dieta; *Aulopus* sp. es demersal profunda y *Pronotogrammus multifasciatus* es demersal costera pero su rango de distribución se extiende hasta los 200m, lo que sugiere que ambas pueden ocupar parte del hábitat y que el lobo marino las consuma en la misma localidad de forrajeo.

De las seis especies que siguen en la lista y que corresponden a la dieta con mayor diversidad; tres son demersales costeras y tres pelágicas costeras, sugiriendo que los lobos las depredan en zonas cercanas a la costa y que esta zona de forrajeo debiera encontrarse dentro de la bahía.

Pronotogrammus eos es una especie batidemersal, lo que llevaría a los lobos marinos a realizar buceos más profundos para encontrarla, tal vez en zonas de la bahía como el Bajo y el Canal de San José. Por último *Serranus aequidens* es una especie demersal profunda y que domina una de las cuatro dietas encontradas, esto podría ser un indicativo de que se encuentra en áreas de la bahía donde es muy abundante.

Revisando los hábitats de las presas podemos darnos una idea de las áreas de la bahía en las que es más probable que se encuentren, sin embargo es difícil relacionar cada una de las cuatro dietas con las áreas de forrajeo ya que el marcaje satelital y el análisis de excretas se realizaron en años distintos y no se cuenta con información exacta de la distribución de éstas especies en la Bahía de La Paz y zonas adyacentes.

Por otra parte éste análisis nos da la pauta para decir que los lobos marinos presentan un grado de especialización en su dieta y que este patrón se mantiene en el tiempo ya que el periodo de muestreo fue de 11 meses.

4.3 Análisis de ácidos grasos

Partiendo del supuesto de que los AG de las presas consumidas por las madres durante los viajes de forrajeo serán los que en su mayoría determinen la composición de la leche (Iverson, 1993) y que estos AG serán transferidos y depositados en el tejido de las crías con muy poca modificación, entonces es posible decir que a través del perfil de AG de los tejidos de las crías estamos infiriendo la alimentación de sus madres.

Según las firmas de AG de la grasa subcutánea de las crías se formaron tres grupos. El primero está compuesto por cuatro crías que se separan del resto principalmente por la alta concentración del AG 18:3n3 que presentan. Este AG es esencial por lo que proviene en su totalidad de la dieta e indica que las madres de estas crías debieron de consumir una dieta más enriquecida en este AG en particular. El segundo grupo está caracterizado por las mayores concentraciones de los ácidos 16:0 y 16:1, ambos AG pueden ser biosintetizados por los depredadores, aunque los niveles en sus tejidos son también influenciados por el consumo de presas específicas (Iverson *et al.*, 2004). Esto lleva a pensar que las hembras depredan sobre algunas presas con altas concentraciones de estos AG. Finalmente, el tercer grupo, contiene a las crías con una mayor proporción del AG 22:6n3, el cuál

es casi en su totalidad derivado de la dieta. Al igual que en el análisis de excretas, éstos resultados sugieren una especialización en la dieta a nivel individual pero extendidos en un periodo más largo de tiempo, sugiriendo nuevamente persistencia en las estrategias de forrajeo.

El análisis de AG puede ser utilizado para dos tipos de interpretación; 1) cualitativa, donde es posible determinar cambios espaciales y temporales en la dieta y 2) cuantitativa, donde es posible hacer estimaciones de la importancia relativa de una presa en la dieta del depredador (Cooper *et al.*, 2005).

El estudio que aquí se presenta es de carácter cualitativo y proporciona información valiosa sobre la ecología trófica, sin embargo sería de gran interés determinar cuáles son las presas que influyen en los tres perfiles de AG encontrados. Para lograr esto es necesario contar con una base de datos completa del perfil de AG de las presas así como realizar estudios en cautiverio para estudiar el metabolismo de cada AG en particular y calcular coeficientes de calibración que eliminen el efecto del metabolismo (Iverson *et al.*, 2004).

4.4 Análisis de isótopos estables

Por estudios de isótopos estables que se han realizado utilizando pelo de crías (Porrás-Peters, 2004) se ha visto que cuando éstas son menores de dos meses de edad y únicamente se alimentan de leche materna, la señal isotópica de las crías refleja la dieta de las hembras. A pesar de que existe una pequeña fraccionación isotópica en las crías ya que presentan valores más enriquecidos de $\delta^{15}\text{N}$ (2.1‰) y valores menos enriquecidos de $\delta^{13}\text{C}$ (0.83 ‰) en comparación con las hembras, la fraccionación es muy constante lo que permite monitorear a las crías para estimar la dieta de las hembras.

En este estudio observamos que casi la totalidad de las crías muestreadas tienen una señal isotópica muy homogénea sin embargo cuatro de ellas presentaron una

señal más enriquecida en $\delta^{13}\text{C}$ ($\approx 1.5\text{‰}$), lo que sugiere la presencia de un pequeño grupo de hembras que se alimentó en un ambiente con una señal isotópica diferente a la de otras áreas de alimentación.

Las variaciones observadas en la composición isotópica del carbono en los mamíferos marinos pueden deberse en parte a las diferencias en la composición isotópica de las plantas que se encuentran en los ecosistemas costeros y oceánicos donde se alimentan los animales (Hobson *et al.*, 1997). En las zonas costeras existe una mayor productividad primaria y en la base de la cadena trófica de las zonas de surgencia, se produce carbono orgánico enriquecido en ^{13}C (Burton y Koch, 1999), por lo que una señal más enriquecida en $\delta^{13}\text{C}$ puede ser un indicativo de alimentación costera.

En un estudio realizado por Burton y Koch (1999) se comparó la señal isotópica en colágeno óseo de varias especies de pinnípedos incluyendo el lobo marino de California, en relación a la latitud y zonas de alimentación (oceánica vs. costera). Se determinó que los pinnípedos que se alimentan en zonas costeras a la misma latitud tiene valores de 1.7 a 2.0 ‰ más enriquecidos en $\delta^{13}\text{C}$, que aquellos que se alimentan en zonas oceánicas.

En ese estudio el lobo marino de California presentó valores intermedios entre los mamíferos de hábitos alimenticios oceánicos y costeros, lo cual se atribuye a las diferencias en productividad primaria entre los ecosistemas costeros donde se alimentan los lobos, más que a una estrategia mixta de alimentación en ambientes oceánico y costero (ver Telemetría satelital).

Esto coincide con lo encontrado por Kuhn *et al.*, (2004) donde se menciona que la mayoría de los viajes de alimentación de los lobos ocurrieron en un rango de 30km lejos de la colonia, lo que aplicado al área de estudio indica que el área de forrajeo está concentrada principalmente en la zona costera. Esto refuerza la idea de que las variaciones observadas en este estudio pueden no deberse a un gradiente de

alimentación oceánico-costero, sino a un gradiente de productividad primaria costera. Esta variación de zonas con distinta productividad dentro de la Bahía de La Paz, encuentra soporte en el estudio antes mencionado de Sánchez-Velasco *et al.*, (2006).

Con el fin de explorar con más detalle ésta idea, se muestra la distribución espacial de clorofila “a” y de biomasa zooplanctónica en la Bahía de La Paz (Fig. 26), durante los meses de mayo, julio y octubre del 2001 y febrero del 2002 (Ávalos-García, 2005).

Cómo podemos observar en la figura 26, la mayor concentración de clorofila “a”, se registró durante el mes de mayo y la mayor biomasa zooplanctónica en febrero. Sin embargo lo importante a resaltar es que dentro de la Bahía y zonas adyacentes existen parches de productividad variable, que deben dejar huellas isotópicas en los depredadores que se alimentan en ellos, como en este caso algunas hembras de lobo marino, que a su vez marcarán isotópicamente a sus crías con un $\delta^{13}\text{C}$ más enriquecido.

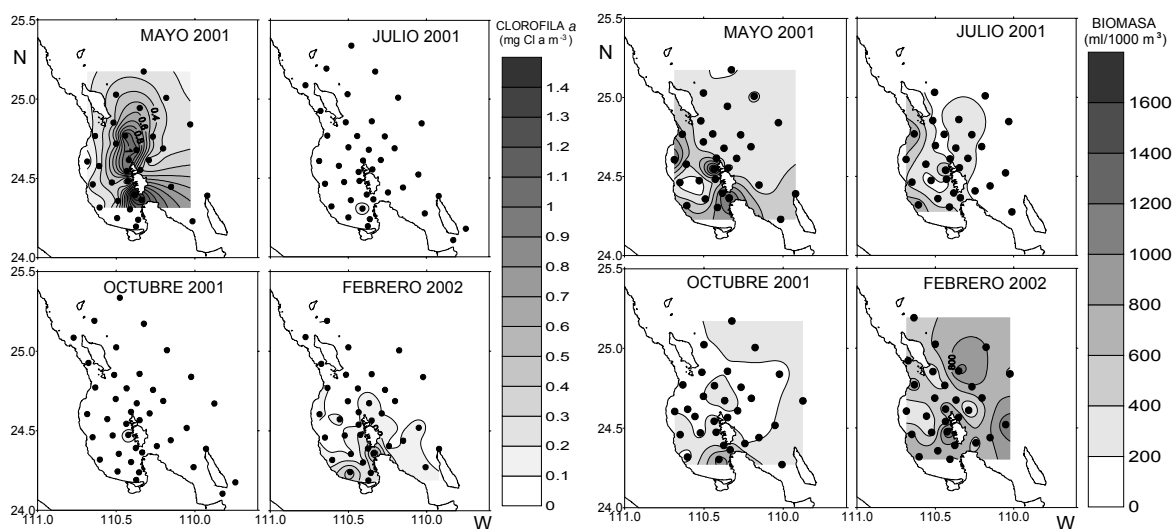


Figura 26. Concentración de clorofila a y biomasa zooplanctónica en La Bahía de La Paz y zona oceánica adyacente durante mayo, julio y octubre del 2001 y febrero del 2002. Tomado de Ávalos-García (2005).

Aunque la resolución de la variación isotópica no fue suficientemente fina como para diferenciar zonas de alimentación dentro de un área relativamente pequeña como la Bahía de La Paz, ésta aproximación analítica, detecta al menos dos áreas de alimentación claramente distintas, con lo que se refuerza la existencia de una diversificación en la dieta del lobo marino de Los Islotes.

El fenómeno de diversificación ó especialización en la dieta se presenta principalmente en depredadores tope y no necesariamente es ocasionado por variaciones ambientales o fenotípicas (Estes *et al.*, 2003). La variación en la dieta ha sido estudiada y reportada a varios niveles en distintas especies de mamíferos marinos. Desde el caso de las orcas (*Orcinus orca*), donde dos poblaciones simpátricas pueden tener dietas completamente diferentes (Ford *et al.*, 1998), ó como el caso de la extrema variación individual en la dieta de una población de nutrias (*Enhydra lutris*) donde los hábitos alimentarios diferenciados persisten a lo largo de la vida de los animales y son transmitidos por línea materna a sus crías (Estes *et al.*, 2003).

Por otra parte la fidelidad a ciertas áreas de alimentación ha sido estudiada en otras especies de pinnípedos como el lobo fino antártico (*Arctocephalus gazella*) (Boyd *et al.*, 2002 y Bonadonna *et al.*, 2001), donde se encontró que las hembras pueden tener preferencias a ciertas zonas de forrajeo, una dirección de los viajes de alimentación constante y, a nivel individual presentan fidelidad por ciertos parches productivos de alimento. Otro caso es el lobo fino del norte (*Callorhinus ursinus*) donde las hembras lactantes de la misma zona de la isla, comparten zonas de forrajeo distintas a las de hembras de otras zonas de la isla (Robson *et al.*, 2004).

Los resultados del presente trabajo parecen apuntar hacia la existencia de varias estrategias alimenticias dentro de la colonia así como de preferencias por zonas específicas de forrajeo. La lobería de los Islotes es relativamente pequeña (≈500 individuos) sin embargo es un ambiente con una gran diversidad íctica (García y Auriol, 1997; Szteren, 2006) con muchas presas potenciales que permitirían la

diversificación en varios especialistas que puedan coexistir en la misma población (Estes *et al.*, 2004).

En este último capítulo, se proporciona evidencia que indica una repartición de nicho alimentario en la lobería de Los Islotes, sin embargo son necesarios estudios más profundos y a largo plazo que permitan explicar el por qué surgen estas especializaciones alimentarias y sus implicaciones para los procesos evolutivos de las poblaciones.

V. CONCLUSIONES

Con el marcaje satelital se determinaron tres zonas de alimentación utilizadas por las hembras; una hacia el oeste de la colonia (costa), otra alrededor de la misma y una tercera hacia el noreste (oceánica).

Estas tres zonas de alimentación pueden estar relacionadas con la distribución espacial de las asociaciones de larvas de peces y la circulación, que a su vez tendrán un efecto en la distribución de las presas de los lobos.

El análisis de excretas durante un periodo de 11 meses sugiere cuatro dietas distintas dentro de la colonia.

De acuerdo al perfil de AG en la grasa subcutánea de las crías se forman tres grupos, cada uno de los cuales puede atribuirse a una dieta distinta y estas tres dietas son representativas de la dieta a largo plazo de las hembras.

El análisis de isótopos estables es una técnica menos sensible sin embargo las variaciones observadas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se atribuyen a zonas de diferente productividad primaria donde se alimentan las hembras.

La evidencias anteriores sugieren que las hembras de la colonia de Los Islotes presentan relativa fidelidad individual a ciertas áreas de alimentación (marcaje satelital e isótopos estables) así como preferencia por ciertas presas (análisis de AG y excretas) lo que en conjunto sugiere una diversificación de los hábitos alimentarios y repartición del nicho ecológico.

CONSIDERACIONES FINALES

El análisis de AG es una herramienta ampliamente utilizada para estudiar la ecología alimentaria de los mamíferos marinos de vida libre ya que permite detectar cambios espaciales y temporales en la dieta así como las principales presas que la componen.

Es de gran relevancia estudiar estas variaciones alimenticias sobre todo en los depredadores tope pues en ellos se verán reflejados cambios significativos del ecosistema.

Este trabajo indica que el perfil de AG de la grasa subcutánea de las crías de lobo marino puede ser un monitor de la dieta de las hembras, por lo que abre la posibilidad de desarrollo de futuras investigaciones donde será más sencillo tener tamaños de muestra representativos de las poblaciones.

Adicionalmente los AG demostraron tener un alto potencial para determinar diferencias individuales en la dieta del lobo marino (*Zalophus californianus*). La especialización individual en la dieta es un tema que ha cobrado mucha relevancia en los últimos años por las implicaciones adaptativas y evolutivas que conlleva.

RECOMENDACIONES

En primer lugar se recomienda el uso de la espectrometría de masas para la identificación de AG, pues se observó que el detector de ionización de flama puede no ser muy eficiente, puesto que se basa únicamente en los tiempos de retención de los estándares y puede en consecuencia llevar a confusiones y errores como subestimar ó sobrestimar las concentraciones de ciertos AG.

Se sugiere también retomar el estudio de las parejas madre-cría con un tamaño de muestra más representativo y de una sola lobería para disminuir la variabilidad asociada a diferencias espaciales así como tomar muestras de leche para determinar la dieta de las hembras.

Para lograr lo anterior es necesario determinar la composición de AG de las principales presas y compararla con la existente en leche y en la grasa subcutánea de los lobos, con el fin de entender más claramente el grado de transferencia de los AG a lo largo de esta cadena energética y su aplicación al estudio de la dieta.

Sería de gran interés e importancia hacer un estudio en la colonia de Los Islotes dirigido a estudiar más a fondo el fenómeno de especialización individual en la dieta utilizando el análisis de AG y marcaje satelital que son las dos aproximaciones que demostraron tener mayor poder de explicación.

Por último este tipo de estudios puede llevarse a cabo en loberías reproductoras de mayor tamaño como San Esteban (5000 individuos) y donde el potencial de existencia de un mayor número de dietas es altamente probable.

REFERENCIAS

Ackman R. G. 1989. Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils. Vol. 1 CRC PRESS. USA. 118, 122pp.

Álvarez-Borrego, S. 1983. The Gulf of California. 427-449. En: Ketchum, B.H. Ed. Ecosystems of the world: Estuaries and enclosed seas. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam.

Arnould. J. P. y Hindell M. A. 1999. The composition of Australian Fur Seal (*Arctocephalus pusillus doriferus*) milk throughout lactation. Physiological and Biochemical Zoology. 2(5):605-612.

Aurioles-Gamboa, D., Fox C., Sinsel F., y Grayeb T. 1984. Prey of the California sea lion (*Zalophus californianus*) in La Paz Bay, B.C.S., México. J. Mamm. 65 (3):519-521.

Aurioles-Gamboa, D. y Sinsel, F. 1988. Mortality of California sea lion pups at Los Islotes, Baja California Sur, México. J. Mamm. 69(1): 180-183.

Aurioles-Gamboa, D., y Zavala, A. 1994. Algunos factores ecológicos que determinan la distribución y abundancia del lobo marino *Zalophus californianus* en el Golfo de California. Cienc.Mar. 20 (4):535-553.

Aurioles-Gamboa, D., Castro, G. I., García, R. F., Luque, F. S., C. Godínez ,R., Brousset, D., Montaña, H. J., Parás, A., Montaña, S. y Pérez-Gil, R. F. 2000. Estado de salud de las poblaciones de lobo marino (*Zalophus californianus*) en el Golfo de California. Mem. del Primer Cong. de Responsables de Proyectos de Invest. en Ciencias Naturales, CONACYT. Veracruz Ver. Oct. 8-11 2000, 11 p.

Aurioles-Gamboa, D., Koch P. L. y Le Boeuf, B., J. 2006. Differences in foraging location of mexican and California elephant seals: evidence from stable isotopes in pups. *Mar. Mamm. Sci.* 22(2): 326-388.

Ávalos-García, C. 2005. Asociaciones de larvas de peces en la Bahía de la Paz B. C. S. y zona oceánica adyacente y su relación con la variación hidrográfica.

Beals, E. W. 1984. Bray-Curtis ordination: An effective strategy for analysis of multivariate ecological data. *Adv. Ecol. Res.* 14: 1-56.

Beck C.A., Iverson S.J. y Don Bowen W. 2005. Blubber fatty acids of gray seals reveal sex differences in the diet of a size-dimorphic marine carnivore. *Can. J. Zool.* 83:377-388.

Best, N.J., Bradshaw, J.A., Hindell, M.A, Nichols, P.D. 2003. Vertical stratification of fatty acids in the blubber of southern elephant seals (*Mirounga leonina*): implications for diet analysis. *Comp. Biochem. Physiol. B* .134:253-263.

Birkeland, A., Kovacs, K. M., Lyndersen, C. y Grahl-Nielsen. O. 2005. Transfer of fatty acids from mothers to their calves during lactation in white whales *Delphinaterus leucas*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 298: 287-294.

Bonadonna, F. Lea, M. A., Dehorter, O. y Guinet, C. 2001. Foraging ground fidelity and route-choice tactics of a marine predator: the Antarctic fur seal *Arctocephalus gazella*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 223: 287-297.

Boyd, I. L., Staniland, I. J. y Martin, A. R. 2002. Distribution of foraging by female Antarctic fur seals. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 242: 285–294.

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

Cárdenas-Palomo 2003. Hábitos Alimenticios y amplitud trófica de machos y hembras adultos de lobo marino de California (*Zalophus californianus californianus*) en Los Islotes, Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma de Yucatán.

Carreón P. L., Del Ángel R. J., y Arjona L. O. 2005. Memorias del curso: Cromatografía de gases espectrometría de masas aplicada a la identificación y cuantificación de ácidos grasos. Dirección de apoyo técnico. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, B. C. S.

Castro-González M. I., D. Auriolos-Gamboa D., y Fernando Pérez-Gil Romo. 2003. AG en plasma de crías de lobo marino de California, *Zalophus c. californianus* de Los Islotes, B. C. S. Cienc. Mar. 29(1): 9-20.

Castro-González M.I. 2002. Valores de referencia de la composición lipídica en plasma de crías menores de tres meses, de la colonia reproductora de lobo marino (*Zalophus c. californianus*) en Los Islotes, B.C.S., 1999. Tesis de Doctorado. UAM. México. 29,33,35,62, 80-81pp.

Cooper, M. H., Iverson, S. J. y Heras, H. 2005. Dynamics of blood chylomicron fatty acids in a marine carnivore: implications for lipid metabolism and quantitative estimation of predator diets. J. Comp. Physiol B. 175:133-145.

Estes, J. A., Riedman, M. L., Staedler, M. M., Tinker, M. T. y Lyon, B. E. 2003. Individual variation in prey selection by sea otters: patterns, causes and implications. Journal of Animal Ecology, 72:144–155.

Ford, K. B., Ellis, M.G., Barrett-Lennard, G. L. Morton, A. B., Palm, R. S. y Balcomb III, K.C.1998. Dietary specialization in two sympatric populations of killer

whales (*Orcinus orca*) in coastal British Columbia and adjacent waters. Can. J. Zool. 76:1456-1471.

Froese, R. and D. Pauly. Editors. 2006. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (10/2006).

García-Aguilar, M.C. y Aurióles-Gamboa, D. 2003a. Breeding season of the California sea lion (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, Mexico. Aquatic Mammals, 29 (1): 67-76.

García-Aguilar, M.C. y Aurióles-Gamboa, D. 2003b. Cuidado materno en el lobo marino de California en Los Islotes, Golfo de California, México. Cien. Mar. 29(5):573-583.

García-Maldonado L. 1997. Digestión in vitro de otolitos de cuatro especies de peces que son alimento del lobo marino de California (*Zalophus californianus*), en México. Tesis de licenciatura en Biología. UNAM. 32p.

García-Rodríguez, F. J. 1995. Ecología alimentaria del lobo marino de California, *Zalophus californianus*, en Los Islotes B.C.S., México. Tesis de Licenciatura en Biología Marina. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 4p.

García-Rodríguez, F. J. y Aurióles-Gamboa, D. 1997. Contribución al conocimiento de la diversidad íctica en la Bahía de La Paz por medio del análisis coprológico en el lobo marino de California, *Zalophus californianus californianus*, 151-161. En: Urbán-Ramírez, J. y Ramírez-Rodríguez, M. (Ed.). La Bahía de La Paz investigación y conservación. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Scripps Institution of Oceanography. México. 345p.

García-Rodríguez, F. J. 1999. Cambios espaciales y estacionales en la estructura trófica y consumo del lobo marino de California, *Zalophus californianus*, en la región de las grandes islas, Golfo de California. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 11-12pp.

García Rodríguez, F., y Auriolles-Gamboa D. 2004. Spatial and temporal variation in the diet on the California sea lion (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, México. Fish. Bull. 102 (1): 47-62.

Grahl-Nielsen, O., Hammill, M.O., Lydersen, C., y Wahlstrom, S. 2000. Transfer of fatty acids from female seal blubber via milk to pup blubber. J. Comp. Physiol. B. 170:277-283.

Grahl-Nielsen O., Andersen M., Derocher A.E., Lydersen C., Wiig O. y Kovacs K.M. 2003. Fatty acid composition of the adipose tissue of polar bears and of their prey: ringed seals, bearded seals and harp seals. Mar. Ecol. Prog. Ser. 265:275-282.

Gurr M. I. y Harwood J.L. 1991. Lipid Biochemistry, an Introduction Fourth edition. Chapman & Hall. Great Britain. 69,193pp.

Henderson, P. A. y Seaby, M. H. 1999. Community Analysis Package. PISCES Conservation Ltd. Lymington UK.

Herman, D. P., Burrows, D. G., Wade, P. R. , Durban, J. W., Matkin, C. O., LeDuc, R. G., Barrett-Lennard, L.G. y Krahn, M.M. 2005. Feeding ecology of eastern North Pacific killer whales *Orcinus orca* from fatty acid, stable isotope, and organochlorine analyses of blubber biopsies. Mar. Ecol. Prog. Ser. 302: 275-291.

Hernández-Camacho, C. J. 2001. Tabla de vida del lobo marino de California *Zalophus californianus* en la lopera de Los Islotes, B.C. S. México. Tesis de Maestría en Manejo de Recursos Marinos. CICIMAR-IPN. La Paz, B. C. S. México. 6p.

Hobson, K. A., Sease, J. L., Merrick, R. L. y Piatt, J. F. 1997. Investigating trophic relationships of pinnipeds in Alaska and Washington using stable isotope ratios of nitrogen and carbon. *Mar. Mamm. Sci.* 13:114-132.

Hooker, S.K., Iverson, S. J., Ostrom, P y Smith, S.C. 2001. Diet of northern bottlenose whales inferred from fatty-acid and stable-isotope analyses of biopsy samples. *Can. J. Zool.* 79:1442-1454.

Issa-Cabrera, M. 2006. Conducta maternal y condición corporal de crías de lobo marino de California (*Zalophus californianus californianus*) en dos zonas reproductivas de la colonia Los Islotes, B.C.S., México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, B.C.S. México. 34p.

Iverson S. J. 1993. Milk secretion in marine mammals in relation to foraging: can milk fatty acids predict diet? *Symposium of the Zoological Society of London.* 66: 263-291.

Iverson, S.J., Oftedal, O.T., Bowen, W.D., Boness, D.J. y Sampugna, J. 1995. Prenatal and postnatal transfer of fatty acids from mother to pup in the hooded seal. *J. Comp. Physiol. B.* 165(1): 1-12.

Iverson S.J., Arnould J.P., y Boyd I. L. 1997. Milk fatty acid signatures indicate both major and minor shifts in the diet of lactating Antarctic fur seals. *Can J. Zool.* 75: 188-197.

Iverson S.J., McDonald J.E. Jr., Smith L.K. 2001. Changes in the diet of free-ranging black bears in years of contrasting food availability revealed through milk fatty acids. *Can J. Zool.* 79:2268-2279.

Iverson S.J., Field Chris, W. Don Bowen y Wade Blanchard. 2004. Quantitative Fatty acid signature analysis: a new method of estimating predator diets. *Ecol. Monogr.* 74(2): 211-235.

Kuhn Carey E., Aurióles-Gamboa D., Costa P. D. 2004. Utilización de hábitat, comportamiento alimenticio y de buceo en hembras adultas de lobo marino de california (*Zalophus californianus*). Memorias XXIX Reunión Internacional para el estudio de los mamíferos marinos. Sociedad Mexicana de Mastozoología Marina. La Paz. Baja California Sur.

Labrada-Martagón, V. 2003. Influencia del turismo sobre la conducta del lobo marino de California *Zalophus californianus* en la lobera de Los Islotes, B. C. S., México. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B. C. S., México. 15p.

Lea M.A., Cherel Y., Guinet C., Nichols P.D. 2002. Antarctic fur seals foraging in the Polar Frontal Zone: interannual shifts in diet as shown from fecal and fatty acid analyses. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 245:281-297.

Lehninger A.L. 1980. Bioquímica. Ediciones Omega S. A. Barcelona. 285-290pp.

Lobb K. 1992. Fatty Acid Classification and Nomenclature. 1-16. In: Chow, C.K. (1992) Fatty Acids in Foods and Their Health Implications. Mancel Decker INC. U.S.A.

Lowry, M. S. 1991. Seasonal and annual variability in the diet of California sea lions *Zalophus californianus* at San Nicolas Island, California, 1981-86. *Fish. Bull.* 89:331-336.

Newsome, S.D., Koch, P.L., Etnier, M.A y Aurióles-Gamboa, D. 2006. Using carbon and nitrogen isotope values to investigate maternal strategies in northeast pacific otariids. *Mar. Mamm. Sci.* 22(3): 556-572

Odell, D. K. 1981. California sea lion. En: Handbook of marine mammals Vol. I. The walrus, sea lions, fur seals and sea otter. 67-97. Ed. Academic Press Inc. London.

Orr, A. J. (1998). Foraging characteristic and activity patterns of the California sea lion (*Zalophus californianus californianus*) in the Bay of La Paz, Baja California Sur. Tesis de Maestría en Ciencias Marinas. Universidad del Estado de California. Fresno, California.

Parás A., Benítez M. A., Brousset D. M., Aurióles D, Luque S, Godínez C. 2002. Manejo y anestesia del lobo marino de California (*Zalophus californianus*) con un equipo portátil de anestesia inhalada usando isoflurano. Hidrobiológica. 12 (1): 81-84.

Porras-Peters, H. J. 2004. Nivel, amplitud y superposición trófica de las colonias de lobo marino *Zalophus californianus* del Golfo de California, México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. 18-23pp.

Puppione, D. L. 1983. Marine mammalian lipoproteins. 79-100. En: CRC Handbook of Electrophoresis. CRC Press.

Rea, L. Groscolas, R., Mioskowski, E. y Castellini, M. 1997. Changes in plasma fatty acids indicate change in nutritional status in developing Weddell seal pups. Polar. Biol. 18: 351-357

Riedman, M. 1990. The pinnipeds. Seals, sea lions and walruses. U. of California Press. Berkeley. USA. 441p.

Robson, W. B., Goebel, M. E., Baker, J. D., Ream, R. R., Loughlin, T. R., Francis, R. C., Antonelis, G. A. y Costa, D. P. 2004. Separation of foraging habitat among breeding sites of a colonial marine predator, the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*). Can. J. Zool. 82: 20–29.

Roden, G. I. 1964. Oceanographic aspects of the Gulf of California. 30-58 En: Van Andel, T.H. y G.G. Shor (Eds.) Marine geology of the Gulf of California: A Symposium, American Association Petrology Geological Memories.

Salazar, V. X. 2006. Variabilidad espacial de perfiles de AG en el lobo marino (*Zalophus californianus*) y su utilidad para diferenciar hábitos alimentarios entre colonias reproductivas del Golfo de California. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz. B. C. S.

Samaniego-Herrera, A. 1999. Efecto de “El Niño” (1997-1998) sobre la población de lobo marino (*Zalophus californianus* lesson 1828) en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo.

Samuel, A. M y Worthy A. J. 2004. Variability in fatty acid composition of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) blubber as a function of body site, season, and reproductive state. Can. J. Zool. 82:1993-1942.

Sánchez –Velazco, L., Beier, E., Avalos-García, C., y Lavín. M. F. 2006. Larval Fish assemblages and geostrophic circulation in Bahía de La Paz and the surrounding southwestern region of the Gulf of California. J. Plankton. Res. 28(11): 1-18.

Smith R.J., Hobson K.A., Koopman H.N., Lavigne D.M. 1996. Distinguishing between populations of fresh and salt-water harbour seals (*Phoca vitulina*) using stable-isotope ratios and fatty acid profiles. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53:272-279.

Staniland, I.J. y Pond, D. 2004. Variability en milk fatty acids: recreating a foraging trip to test dietary predictions in Antarctic fur seals. Can. J. Zool. 82:1099-11107.

Staniland, I. J. y Pond, D. W. 2005. Investigating the use of milk fatty acids to detect dietary changes: a comparison with faecal analysis in Antarctic fur seals. Mar. Ecol. Prog. Ser. 294: 283-294.

StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.

Szteren D., Auriolles-Gamboa D., Gerber L. R. 2006. Population status and trends of the California Sea Lion (*Zalophus californianus californianus*) in the Gulf of California, México, 369-384. En: Trites A., S. Atkinson, D. De Master, L. Fritz, T. Gelatt, L. Rea, and K. Wynne (eds). Sea Lions of the world. Alaska Sea Grant College Programs. University of Alaska Fairbanks.

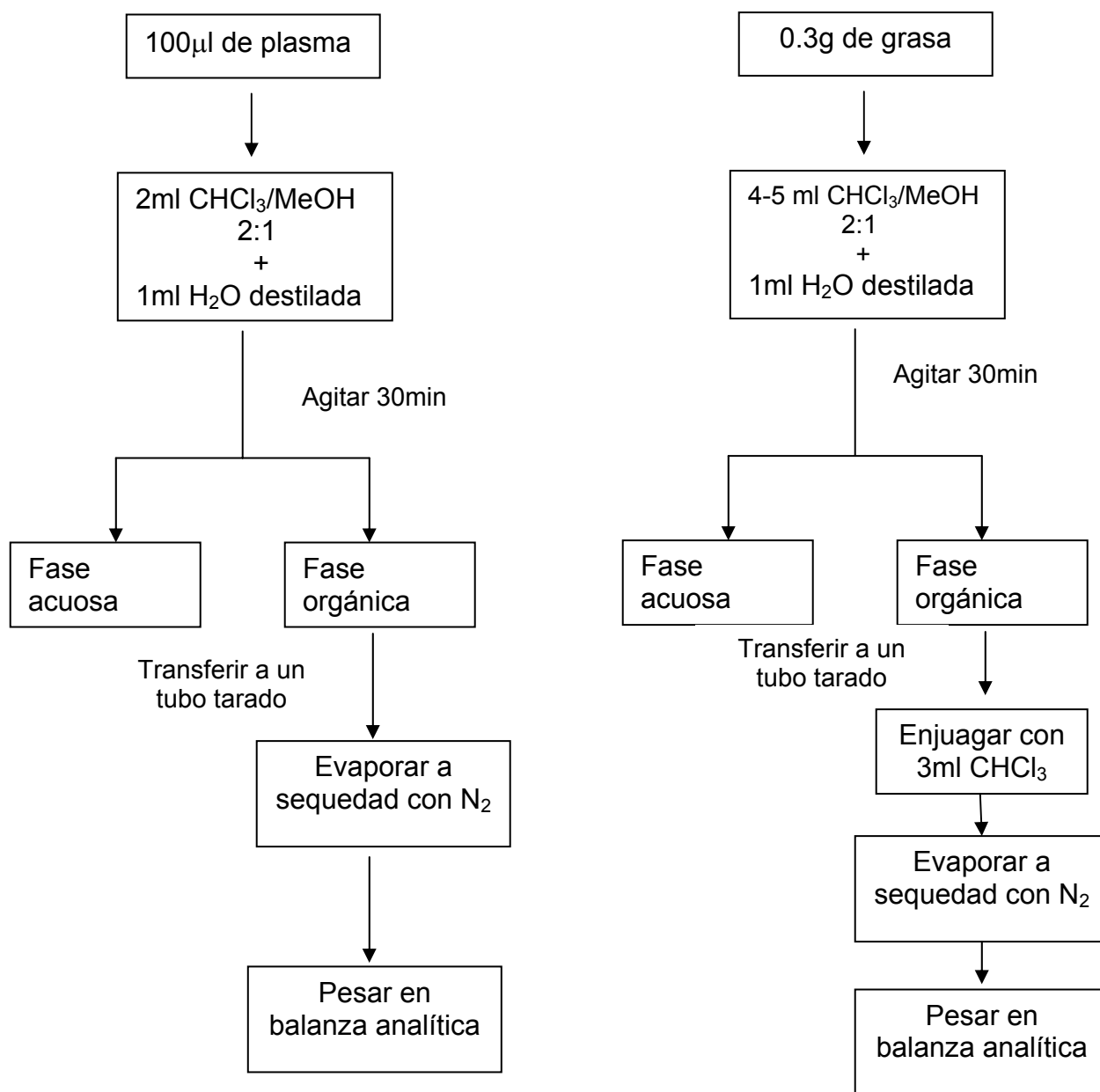
Walker, B. W. 1960. The distribution and affinities of the marine fish fauna of the Gulf of California. Syst. Zool. 9:123-133.

Zar J. H., 1996. Biostatistical Analysis. Prentice Hall, USA. 282p.

APÉNDICE I

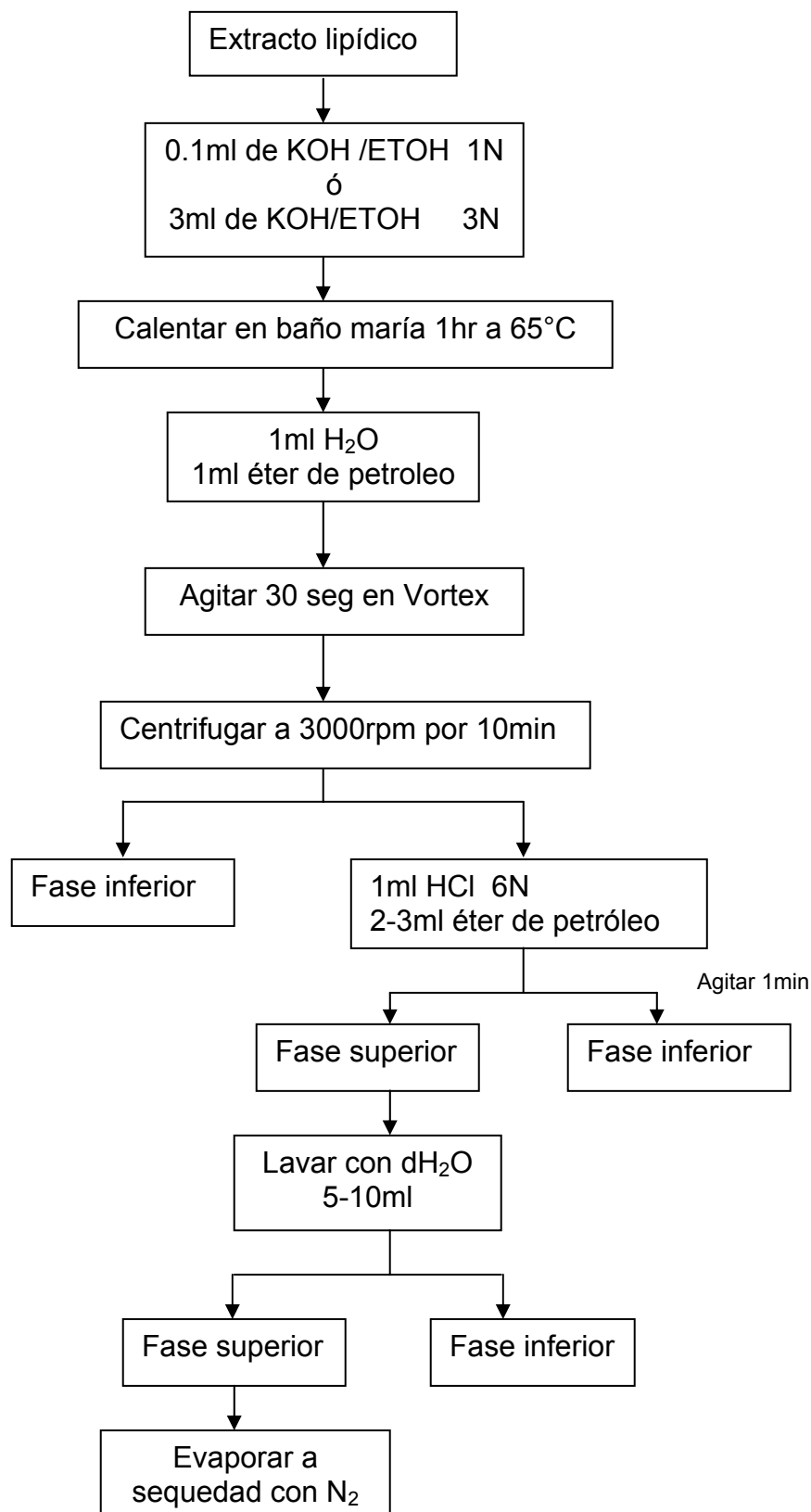
Técnicas para la obtención de ésteres metílicos de las muestras de plasma y grasa subcutánea.

3.1 Diagrama de flujo para la obtención de lípidos totales de las muestras de plasma Castro-González, (2002) y de grasa (Técnica utilizada en el INNCMNSZ).

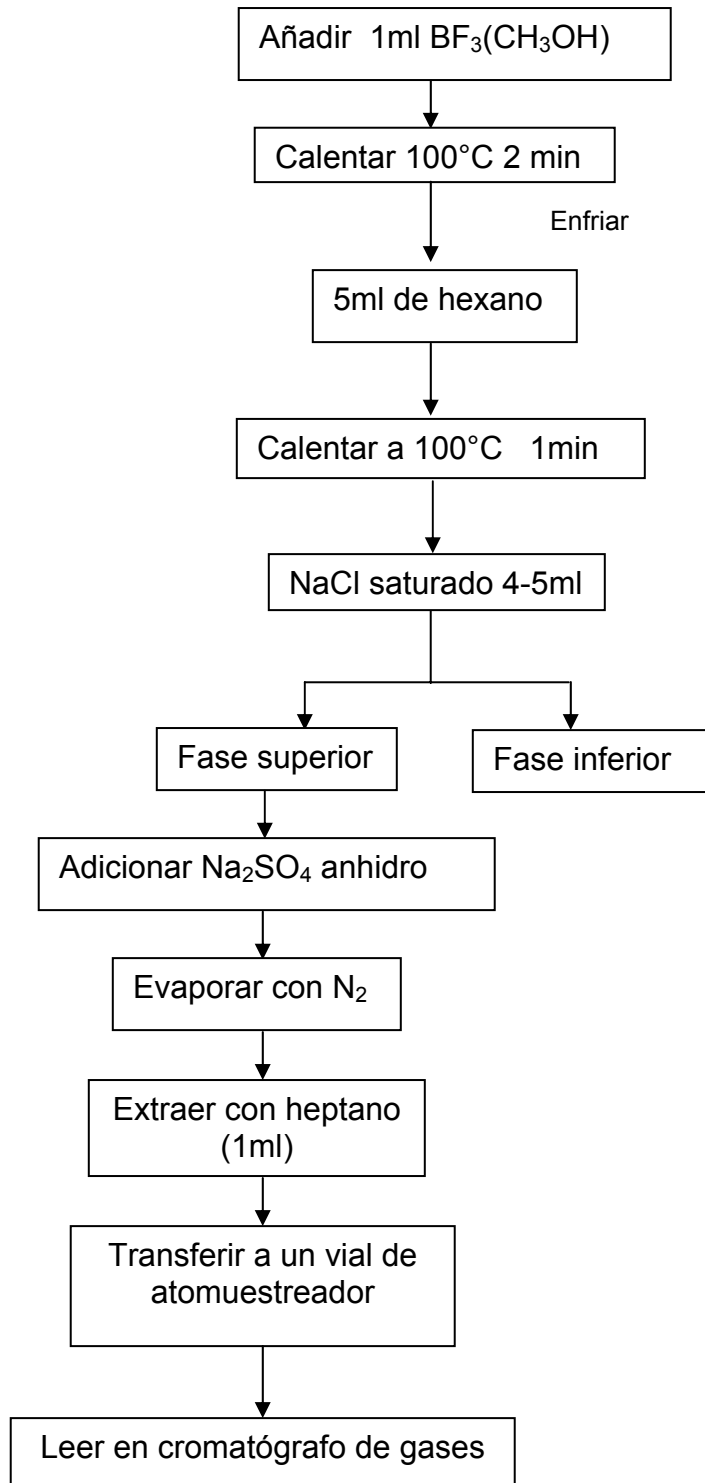


3.2 Diagrama de flujo para la obtención de ésteres métilcos de ácidos grasos de las muestras de plasma (Castro-González, 2002).

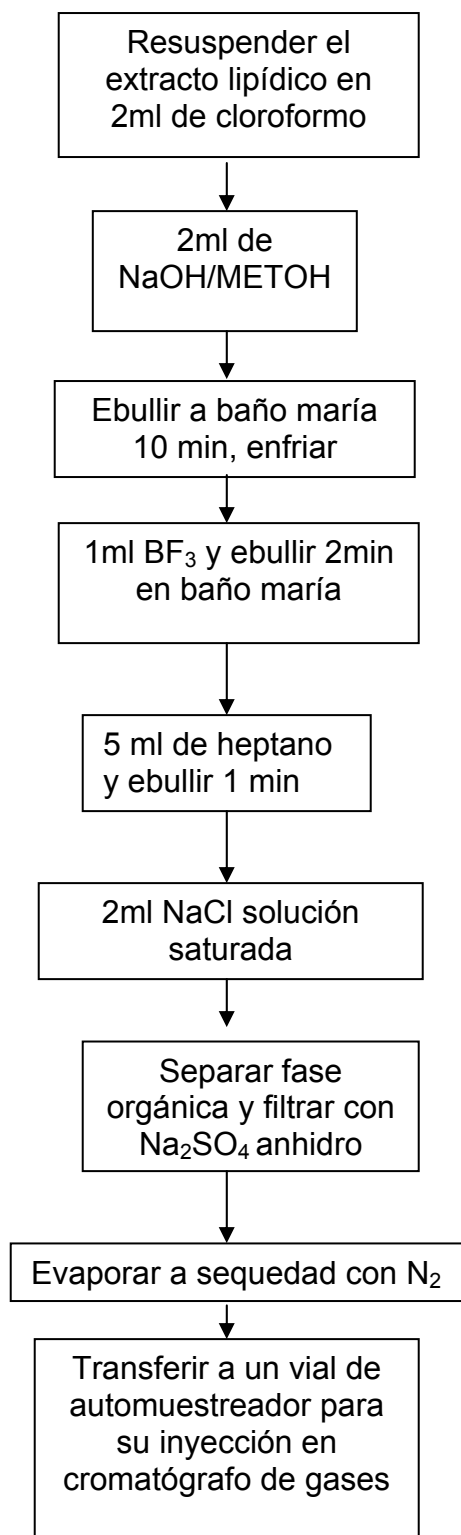
a) Saponificación



b) Metilación



3.3 Diagrama de flujo para la obtención de ésteres métilicos de ácidos grasos de las muestras de grasa subcutánea (Técnica utilizada en el INNCMNSZ).



APÉNDICE II

Concentraciones promedio de AG identificados y cuantificados en las muestras de plasma y grasa subcutánea.

1.1 Concentración promedio $\pm$ error estándar de los 29 AG identificados y cuantificados en plasma de crías de lobo marino de Los Islotes.

Ácido Graso	%Plasma
12:0	0.22 $\pm$ 0.09
13:0	0.04 $\pm$ 0.03
14:0	1.65 $\pm$ 0.48
14:1	0.46 $\pm$ 0.12
15:0	1.24 $\pm$ 0.40
15:1	0.14 $\pm$ 0.04
16:0	13.97 $\pm$ 2.97
16:1	0.66 $\pm$ 0.08
17:0	0.63 $\pm$ 0.16
18:0	2.60 $\pm$ 1.64
18:1n9c	13.32 $\pm$ 1.18
18:2n6c	2.87 $\pm$ 0.20
20:0	0.28 $\pm$ 0.08
18:3n6	0.57 $\pm$ 0.11
20:1	0.19 $\pm$ 0.16
18:3n3	0.08 $\pm$ 0.06
21:0	1.42 $\pm$ 0.51
20:2n6	0.14 $\pm$ 0.04
22:0	0.47 $\pm$ 0.14
20:3n6	38.77 $\pm$ 3.49
22:1n9	1.79 $\pm$ 0.73
20:3n3	0.51 $\pm$ 0.49
20:4n6	0.11 $\pm$ 0.10
23:0	0.16 $\pm$ 0.06
22:2n6	3.73 $\pm$ 0.52
24:0	0.02 $\pm$ 0.02
20:5n3	0.20 $\pm$ 0.07
24:1	1.86 $\pm$ 0.79
22:6n3	11.83 $\pm$ 0.94
Σ AGS	22.68 $\pm$ 1.12
Σ AGMI	18.40 $\pm$ 1.80
Σ AGPI	58.79 $\pm$ 3.83
Σ n6	46.70 $\pm$ 3.73
Σ n3	12.62 $\pm$ 2.89

1.2 Concentración promedio $\pm$ error estándar de los 30 AG identificados y cuantificados en grasa subcutánea de crías de lobo marino de Los Islotes.

Ácido Graso	% Grasa subcutánea
11:0	0.47 $\pm$ 0.05
12:0	0.02 $\pm$ 0.02
13:0	0.00 $\pm$ 0.00
14:0	4.91 $\pm$ 0.26
14:1	0.52 $\pm$ 0.13
15:0	0.51 $\pm$ 0.05
15:1	0.17 $\pm$ 0.04
16:0 y 16:1	44.07 $\pm$ 1.01
17:0	0.55 $\pm$ 0.04
17:1	0.80 $\pm$ 0.04
18:0	0.65 $\pm$ 0.11
18:1n9c	22.45 $\pm$ 0.39
18:2n6c	1.17 $\pm$ 0.09
20:0	0.25 $\pm$ 0.03
18:3n6	1.10 $\pm$ 0.14
20:1	0.72 $\pm$ 0.06
18:3n3	1.45 $\pm$ 0.41
21:0	0.71 $\pm$ 0.07
20:2n6	0.50 $\pm$ 0.03
22:0	0.30 $\pm$ 0.03
20:3n6	0.69 $\pm$ 0.04
22:1n9	0.11 $\pm$ 0.04
20:3n3	0.03 $\pm$ 0.01
20:4n6	0.93 $\pm$ 0.07
23:0	0.07 $\pm$ 0.04
22:2n6	0.64 $\pm$ 0.14
24:0	0.02 $\pm$ 0.01
20:5n3	3.27 $\pm$ 0.33
24:1	4.01 $\pm$ 0.24
22:6n3	8.91 $\pm$ 0.82
Σ AGPI	18.70 $\pm$ 0.83
Σ n6	5.04 $\pm$ 0.11
Σ n3	3.90 $\pm$ 1.95

1.3 Concentración promedio $\pm$ error estándar de los 28 AG identificados y cuantificados en plasma de crías y hembras de lobo marino de 6 loberías del Golfo de California.

Ácido Graso	Hembras		Crías	
6:0	0.48 $\pm$	0.22	0.10 $\pm$	0.05
11:0	0.49 $\pm$	0.15	0.34 $\pm$	0.14
13:0	1.12 $\pm$	0.42	2.23 $\pm$	0.95
14:0	0.84 $\pm$	0.36	0.83 $\pm$	0.62
15:0	1.83 $\pm$	0.42	1.74 $\pm$	0.70
15:1	1.07 $\pm$	1.01	0.61 $\pm$	0.22
16:0	34.06 $\pm$	4.78	33.27 $\pm$	3.19
16:1n7	13.65 $\pm$	1.66	10.37 $\pm$	1.59
17:1	2.74 $\pm$	1.18	2.10 $\pm$	0.71
18:0	0.35 $\pm$	0.18	0.99 $\pm$	0.54
18:1n9t	3.40 $\pm$	1.47	1.62 $\pm$	0.48
18:1n9c	1.10 $\pm$	0.53	3.08 $\pm$	1.23
18:2n6t	0.38 $\pm$	0.33	0.41 $\pm$	0.28
18:2n6c	1.18 $\pm$	0.43	1.12 $\pm$	0.44
18:3n6	10.27 $\pm$	3.15	7.15 $\pm$	1.71
18:3n3	0.26 $\pm$	0.14	0.31 $\pm$	0.16
20:0	4.99 $\pm$	1.75	5.44 $\pm$	1.12
20:1n9	0.04 $\pm$	0.04	0.66 $\pm$	0.48
20:3n3	2.40 $\pm$	1.24	1.91 $\pm$	0.56
20:4n6	0.20 $\pm$	0.20	0.37 $\pm$	0.37
21:0	0.07 $\pm$	0.07	0.53 $\pm$	0.28
22:0	11.96 $\pm$	2.84	17.48 $\pm$	3.05
22:1n9	0.31 $\pm$	0.24	0.01 $\pm$	0.01
20:5n3	4.17 $\pm$	1.86	2.40 $\pm$	1.31
22:2n6	1.90 $\pm$	0.83	1.34 $\pm$	0.66
24:0	0.23 $\pm$	0.18	0.23 $\pm$	0.23
24:1	0.18 $\pm$	0.13	1.73 $\pm$	0.76
22:6n3	0.35 $\pm$	0.26	1.27 $\pm$	0.55
Σ AGS	56.41 $\pm$	3.08	63.18 $\pm$	3.15
Σ AGMI	22.48 $\pm$	1.61	20.16 $\pm$	1.17
Σ AGPI	21.11 $\pm$	1.08	16.27 $\pm$	0.71
Σ n6	13.93 $\pm$	1.90	10.39 $\pm$	1.28
Σ n3	7.18 $\pm$	0.93	5.88 $\pm$	0.45

1.4 Concentración promedio $\pm$ error estándar de los 32 AG identificados y cuantificados en grasa subcutánea de crías y hembras de lobo marino de 6 loberías del Golfo de California.

Ácido Graso	Hembras	Crías
4:0	0.45 $\pm$ 0.34	2.62 $\pm$ 1.38
12:0	0.10 $\pm$ 0.02	0.12 $\pm$ 0.07
13:0	0.27 $\pm$ 0.13	1.30 $\pm$ 0.31
14:0	3.40 $\pm$ 0.35	3.20 $\pm$ 0.41
15:0	0.55 $\pm$ 0.07	0.60 $\pm$ 0.09
15:1	0.23 $\pm$ 0.09	0.25 $\pm$ 0.08
16:0	12.64 $\pm$ 1.15	17.45 $\pm$ 1.50
16:1	9.91 $\pm$ 0.89	11.38 $\pm$ 1.65
17:0	0.82 $\pm$ 0.13	0.75 $\pm$ 0.19
17:1	1.03 $\pm$ 0.10	0.88 $\pm$ 0.11
18:0	2.45 $\pm$ 0.42	2.55 $\pm$ 0.35
18:1n9t	0.65 $\pm$ 0.34	0.35 $\pm$ 0.20
18:1n9c	28.04 $\pm$ 2.36	26.11 $\pm$ 2.03
18:2n6t	0.13 $\pm$ 0.03	0.28 $\pm$ 0.08
18:2n6c	1.57 $\pm$ 0.09	1.63 $\pm$ 0.25
18:3n6	0.24 $\pm$ 0.08	0.13 $\pm$ 0.03
18:3n3	0.78 $\pm$ 0.09	0.66 $\pm$ 0.11
20:0	0.35 $\pm$ 0.13	0.33 $\pm$ 0.08
20:1n9	1.50 $\pm$ 0.16	1.11 $\pm$ 0.18
20:2n6	0.32 $\pm$ 0.01	0.60 $\pm$ 0.09
20:3n3	0.26 $\pm$ 0.12	0.35 $\pm$ 0.10
20:3n6	0.38 $\pm$ 0.12	0.26 $\pm$ 0.06
20:4n6	2.78 $\pm$ 0.25	2.75 $\pm$ 0.24
21:0	0.27 $\pm$ 0.05	0.23 $\pm$ 0.05
22:0	0.86 $\pm$ 0.18	0.93 $\pm$ 0.19
20:5n3	4.27 $\pm$ 0.38	3.72 $\pm$ 0.60
22:1n9	0.17 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.04
22:2n6	0.16 $\pm$ 0.10	0.16 $\pm$ 0.06
23:0	0.06 $\pm$ 0.03	0.40 $\pm$ 0.12
24:0	0.09 $\pm$ 0.03	0.40 $\pm$ 0.15
24:1	6.18 $\pm$ 0.40	4.54 $\pm$ 0.60
22:6n3	19.10 $\pm$ 3.80	13.87 $\pm$ 4.05
Σ AGS	22.32 $\pm$ 0.95	30.38 $\pm$ 1.29
Σ AGMI	47.70 $\pm$ 3.39	44.77 $\pm$ 3.23
Σ AGPI	29.98 $\pm$ 1.69	24.42 $\pm$ 1.22
Σ n6	5.58 $\pm$ 1.01	5.81 $\pm$ 0.99
Σ n3	24.40 $\pm$ 4.42	18.60 $\pm$ 3.17

APÉNDICE III

Prueba de comparación de medias de Siegel y Castellan para la edad y el peso de los ácidos grasos de la grasa subcutánea de las crías

2.1 Peso

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **14:0**
(Categorías grasa) Independent (grouping)
variable: peso Kruskal-Wallis test: H (2, N= 24)
=6.348000 p =.0418

	1	2	3
1		0.047712	1.000000
2	0.047712		0.463271
3	1.000000	0.463271	

Multiple Comparisons p values (2-tailed);
18:1n9c (Categorías grasa) Independent
(grouping) variable: peso Kruskal-Wallis test: H
(2, N= 24) =8.814667 p =.0122

	1	2	3
1		0.009182	1.000000
2	0.009182		1.000000
3	1.000000	1.000000	

Multiple Comparisons p values (2-tailed);
20:2n6 (Categorías grasa) Independent
(grouping) variable: peso Kruskal-Wallis test: H
(2, N= 24) =11.34667 p =.0034

	1	2	3
1		0.006154	0.107576
2	0.006154		1.000000
3	0.107576	1.000000	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **22:1n9** (Categorías grasa) Independent (grouping) variable: peso Kruskal-Wallis test: H (2, N= 24) =8.887605 p =.0118

	1	2	3
1		0.046997	1.000000
2	0.046997		0.312545
3	1.000000	0.312545	

2.2 Edad

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **14:1** (Categorías grasa) Independent (grouping) variable: Edad Kruskal-Wallis test: H (2, N= 29) =7.968998 p =.0186

	1	2	3
1		0.496935	0.022200
2	0.496935		0.876235
3	0.022200	0.876235	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **15:0** (Categorías grasa) Independent (grouping) variable: Edad Kruskal-Wallis test: H (2, N= 29) =10.64967 p =.0049

	1	2	3
1		0.449009	0.074701
2	0.449009		0.003991
3	0.074701	0.003991	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **17:0** (Categorías grasa) Independent (grouping) variable: Edad Kruskal-Wallis test: H (2, N= 29) =7.727833 p =.0210

	1	2	3
1		1.000000	0.016910
2	1.000000		0.255107
3	0.016910	0.255107	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **17:1**
 (Categorías grasa) Independent (grouping)
 variable: Edad Kruskal-Wallis test: H (2, N= 29)
 =6.783005 p =.0337

	1	2	3
1		1.000000	0.034063
2	1.000000		0.175321
3	0.034063	0.175321	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **18:3n3**
 (Categorías grasa) Independent (grouping)
 variable: Edad Kruskal-Wallis test: H (2, N= 29)
 =7.115068 p =.0285

	1	2	3
1		0.093129	0.492499
2	0.093129		1.000000
3	0.492499	1.000000	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **20:2n6**
 (Categorías grasa) Independent (grouping)
 variable: Edad Kruskal-Wallis test: H (2, N= 29)
 =8.325123 p =.0156

	1	2	3
1		1.000000	0.013172
2	1.000000		0.158253
3	0.013172	0.158253	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **20:4n6**
 (Categorías grasa) Independent (grouping)
 variable: Edad Kruskal-Wallis test: H (2, N= 29)
 =8.259852 p =.0161

	1	2	3
1		0.332313	0.015494
2	0.332313		0.998419
3	0.015494	0.998419	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); **22:2n6**
 (Categorías grasa) Independent (grouping)
 variable: Edad Kruskal-Wallis test: H (2, N= 29)
 =9.469006 p =.0088

	1	2	3
1		0.015338	0.096771
2	0.015338		1.000000
3	0.096771	1.000000	