



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL
NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

Ecología alimenticia de la ballena gris (*Eschrichtius robustus*,
Lilljeborg, 1861): una ventana a la dinámica interna de los
ecosistemas.

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Biología Marina)

P R E S E N T A

JAVIER CARAVEO PATIÑO

La Paz, Baja California Sur, México, diciembre del 2004

Derechos Reservados conforme a la ley de derechos de Autor

© Copyright, 2004. Javier Caraveo Patiño.

México D.F.: (03-2004-101911583000-01).

CONFORMACIÓN DE COMITÉS

COMITÉ DE TUTORIAL

Dra. Bertha Olivia Arredondo	CIBNOR (Director de Tesis)
Dr. Jesús Ángel de León González	UANL (Co-Director de Tesis)
Dr. Susan Gardner	CIBNOR (Co-Tutor)
Dr. Luis A. Soto González	UNAM (Co-Tutor)
Dr. Keith Alan Hobson	CWS (Co-Tutor)

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. Jesús Ángel de León González	UANL
Dr. Alejandro López Cortés	CIBNOR
Dra. Susan Gardner	CIBNOR
Dr. Luis A. Soto González	UNAM
Dr. Keith Alan Hobson	CWS

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

Dr. Jesús Ángel de León González	UANL
Dr. Alejandro López Cortés	CIBNOR
Dr. Susan Gardner	CIBNOR
Dr. Luis A. Soto González	UNAM
Dra. Bertha Olivia Arredondo	CIBNOR

Suplente.

Dr. Carlos Lechuga Devéze	CIBNOR
---------------------------	--------

Resumen:

La propuesta que los ácidos grasos esenciales están intrincablemente unidos con procesos bioquímicos y fisiológicos claves, y que son una propiedad integral de la función de los ecosistemas, sugieren reinterpretar la dinámica de las especies desde una perspectiva que incluya estos movimientos y el flujo de los ecosistemas como un todo. Este estudio muestra un mecanismo generativo teórico, el cual permitió inferir que el nacimiento anual de ballenas grises necesita una interacción biológica con la fauna de las lagunas de reproducción; particularmente, una conexión metabólica entre la función fisiológica de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga [ácido araquidónico (ARA, 20:4n-6), eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y docosaheptaenoico (DHA, 22:6n-3)]. El análisis de LC-PUFA en piel, grasa, y de sus presas en la laguna más sureña de reproducción y en otros puntos a lo largo de su ruta migratoria incluyendo sus principales presas en el Ártico, indicaron que la migración reproductiva está sincronizada para proveer una adecuada conexión alimenticia entre ARA, EPA y DHA para mantener el balance en los efectos fisiológicos entre los correspondientes eicosanoides y la alta demanda de ARA y DHA durante la máxima tasa de crecimiento del cerebro. Análisis de isótopos estables permitieron corroborar la actividad alimenticia de la ballena gris tanto en las lagunas de reproducción como a lo largo del corredor migratorio. La oscilación isotópica de carbono a lo largo de la barba de un juvenil de un año de edad mostró una variación en la dieta durante el año, y no soportó la hipótesis que las ballenas grises no se alimentan mientras crían a sus ballenatos en las áreas donde pasan el invierno, por el contrario indicó que mientras las ballenas grises permanecen en las lagunas de crianza, las ballenas madres dirigen su actividad para satisfacer algún requerimiento metabólico para la reproducción y/o crianza. El análisis de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en sus presas en Bahía Magdalena (la laguna de crianza más sureña) y en las biopsias de piel de adultos, sugirieron que las ballenas estaban probablemente alimentadas de las presas de esta laguna. Adicionales análisis con $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en barbas de cinco individuos, mostraron que solo la ballena de un año de edad reflejó la presa del ártico asumida como principal. Se encontró también que la tasa de crecimiento de las barbas de este juvenil en los últimos 5 meses de su vida fue equivalente a la tasa calculada para una cría rehabilitada en cautiverio. Esta información permitió asumir que la tasa de crecimiento de las barbas para adultos fue la misma, que los registros isotópicos en las barbas sólo registraron alrededor de un año de información, y que el tiempo de formación del valor más bajo de $\delta^{15}\text{N}$ a lo largo de las barbas correspondió a otoño (lo cual representó el fin del periodo de hyperfagia). Los análisis de isótopos estables para la ballena gris indicaron que en invierno las ballenas grises experimentan una escasez de alimento, y su distribución cambia a lo largo del corredor migratorio. Sin embargo, una pregunta debe ser respondida para entender la dinámica de esta especie en el ecosistema: ¿el suplemento de alimento de la ballena gris (o de una especie dada) depende sólo del monto total de la biomasa o la composición cualitativa del alimento tiene cierto significado? Este estudio corroboró que la función fisiológica de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga está intrincablemente unida con la respuesta.

Abstract

The proposal that essential fatty acids are inextricably linked with key physiological and biochemical processes, and are integral to proper ecosystem functioning, suggests reinterpreting the dynamics of species from a perspective encircling these movements and fatty acids flow in ecosystems as a whole. This study shows a theoretical generative mechanism which allowed infer that the annual birth of gray whales need a biological relationship with the fauna of calving lagoons; particularly a metabolic connection between the physiological role of long chain polyunsaturated fatty acids [(ARA, 20:4n-6), eicosapentaenoic (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoic (DHA, 22:6n-3)], the annual birth of gray whales, and the structure's internal dynamics of the ecosystem. The LC-PUFA analysis in skin, blubber and their prey from the southernmost reproductive lagoon and from other point along the route migration including their main prey in the artic, indicated that the reproductive migration is synchronized to provide adequate dietary relationship among ARA, EPA, and DHA to maintain the balance in physiological effect among the corresponding ecosanoids, and the high demand for ARA and DHA during the maximum growth rate of the brain. Stable isotope analysis allowed corroborating the feeding activity of gray whale both in calving lagoons as along the migratory corridor. Carbon isotopic oscillation along the baleen plate of a stranded 1-year-old whale showed a variation in diet during the year, and do not support the hypothesis that gray whales do not feed while nursing at wintering grounds, but instead indicate that while gray whales remain in the southern nursery lagoons, the mother whales direct their activity to satisfy one or several metabolic requirements for reproduction and/or nursing. The $\delta^{13}\text{C}$ analysis in their prey in Bahía Magdalena (the southernmost calving lagoon) and in skin biopsies from adults, suggested that whales were more likely feeding on prey from this calving lagoon. Additional analysis with $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ en baleen plates of five gray whales showed that only the whale with 1-year-old reflected the assumed principal arctic prey. It was found that the rate of baleen growth inferred for this juvenile in the last 5 months of its life (6mm/week) was equivalent to the rate calculated for a rehabilitating gray whale calf in captivity. This information allow to assume that the rate of baleen growth was the same for adult whales, that the baleen records of stable isotope ratios only recorded around a year of information, and that the timing of the formation of the lowest $\delta^{15}\text{N}$ value measured along the baleen plates corresponded to formation in autumn (which represented the end of the hyperphagia period). The stable isotopes analysis for gray whale indicated that in winter gray whales experience scarcity of food, and that their distribution changes along the migratory corridor. However one question should be answered to understand the dynamic of this specie in the ecosystem: does the food supply of gray whales (or, of a given species) depend only on the total amount of biomass or is the qualitative composition of the food of certain significance? This study corroborated that physiological role of the long chain polyunsaturated fatty acids are inextricably linked with the answer.

DEDICATORIA

Dedico estas ideas a la potencialidad pura que las creo y permitió moverme a través de las sincronicidades, y lograr unir cada una de ellas en este manuscrito. Fue simplemente fascinante.

Gracias

A mi Padre Victor Caraveo, por enseñarme a elegir con libertad, por su amor y su sabiduría, que aunque ya no estas físicamente, te siento tan cerca.

A mi Madre Mirna Patiño, por darme la maravillosa oportunidad de experimentar la vida.

A mis hijas Denisse y Yeremmi, por llenarme de amor y felicidad, al brindarme la oportunidad de abrazar, alimentar, escuchar, ver, oler y sentir lo que es el amor incondicional encarnado.

A mi esposa Francis Monrroy, quien me ha enseñado el camino de la disolución del ego, me ha ayudado a detectar las sincronisidades en el Anverso del Universo, con amor y paciencia

A cada uno de mis hermanos y mis sobrinos, por el amor que logré reconocer gracias a su existencia, por la oportunidad de experimentar el regresar a las raíces del árbol del cual surgimos todos, y vivir el hermoso reencuentro cada vez que el viento de la vida me permite vernos, y aun cuando este ha erosionado nuestra cara y nuestros huesos seguimos compartiendo con complacencia y felicidad, el recostarnos a un lado del tronco que nos dio el ser y sobre la madre tierra y desde ahí observar la vida y conversar acerca de sus secretos, leyes y milagros

También a todos mis amigos quienes a lo largo de mi caminar he tenido la fortuna de conocer y disfrutar de su invaluable compañía, que ha sido luz cuando me he encontrado en la oscuridad, han sido apoyo para levantarme cuando mi caminar desenfrenado me ha hecho caer, por que han sido ejemplo de los que tengo que aprender como ser humano.

Y finalmente dedico estas ideas a todos los Maestros que en algún momento fueron partícipes de mi formación como Biólogo y ser humano.

“La capacidad imaginativa de la mente no es la descarga epifenomenal de los procesos más puros de la lógica computada..., no, la imagen es una transformación de la conciencia de otras dimensiones de la sensibilidad”...

William Irwin Thompson.

“..El universo está compuesto de música, y no de materia”.

Heisenberg

“Un ejemplo de los planteamientos globales y analíticos complementario, se puede encontrar en el modo en que un pianista enfoca una nueva composición. Al principio, el músico debe desarrollar un –sentido– de la música, su sentido global e impacto. Pero esto también implica un análisis detallado que revela la manera en que está construida la pieza, la razón por la cual ciertas cosas actúan tal como lo hacen y las relaciones internas que existen dentro de la obra. Estudiando la partitura y probando varios pasajes en el piano, el músico empieza a comprender el funcionamiento interno de la música. Pero esto siempre se realiza con relación a la forma global de la música y el efecto que se producirá en la sala de concierto. Por lo tanto la actuación final surge del planteamiento holístico o global y de la exploración local y analítica.

Algo parecido puede ocurrir con la manera en que un científico enfoca la naturaleza, aunque en muchos casos las consideraciones más globales tienden a perderse en detalles. La fragmentación y la confusión de la ciencia sucede cuando se considera a un sistema como una colección de unidades distintas que no están relacionadas internamente en un sentido más profundo. Igualmente erróneo es el tratamiento de un sistema como algo esencialmente indivisible cuando, de hecho, contiene partes relativamente independientes”

F. David Peat.

...“Un perro es tan inteligente como un hombre, un infusorio es tan inteligente como un perro, una molécula tan inteligente como un infusorio. Solo que, -inteligente- entendemos a menudo no un ser que entiende sus propios negocios, sino un ser que pudiera comprender los nuestros y del que pudiéramos comprender los suyos”

Raymundo Ruyer.

“...En un sistema autorreferente o autodeterminado como lo es un sistema vivo, el observador sólo puede describir sus interacciones con partes que él define mediante interacciones, pero estas partes sólo están en su esfera de percepción. Si no proporciona, explícita o implícitamente, una teoría que incluya la estructura relacional del sistema, y sustituya conceptualmente su descripción de los componentes, nunca podrá comprenderla. Por consiguiente, la explicación completa de la organización del sistema no surgirá de ninguna observación concreta, o descripción detallada, o de la enumeración de sus partes, sino más bien como una explicación desde la síntesis, conceptual o concreta, de un sistema que haga lo que hace el sistema”

Humberto Maturana.

“...los patrones significativos de la sincronicidad, que se manifiestan en la materia y también en la mente, representan el despliegue de un orden más profundo que está más allá de la distinción de ambas. Por lo tanto la sincronicidad es la expresión del potencial o significado que contiene un determinado punto de existencia. Actúa como una indicación del significado que se oculta dentro de una vida, relación o momento histórico determinado.”

F. David Peat.

AGRADECIMIENTOS:

Ha sido intenso y maravilloso haber llegado a este momento de mi formación académica, y aquí en la contemplación del camino recorrido doy gracias a Dios, pero no por obtener el título académico, doy gracias por lo vivido, que de alguna manera me brindó la oportunidad de sentir nuevamente la experiencia de ser, retomar las suficientes fuerzas para continuar el camino a lo largo de estos cinco años dentro del doctorado, y vislumbrar el sendero que aún me falta por recorrer para regresar a casa.

A lo largo de mi caminar y de disfrutar de la observación de lo bello de la naturaleza, se me ha dado la oportunidad de reconocer el proceso creativo de la vida, la separación y el encuentro. Desde el propio surgimiento de nuestro universo (la separación de la potencialidad pura), hasta su encuentro en las sincronicidades en el Universo vivo, que implican el desplegamiento significativo de la potencialidad en la densificación de cualquier forma de vida en nuestro planeta tierra. Cuya dinámica de sus estructuras se rigen bajo el mismo principio, separación (muerte) y encuentro (nacimiento).

Agradezco enormemente a la comisión revisora (Dr. Jesús Ángel de León González, Dra. Susan Gardner, Dr. Luis A. Soto González, Dr. Keith Alan Hobson) por su apreciable apoyo y paciencia en la revisión del manuscrito, además de la ayuda brindada a lo largo de estos cinco años. Un especial agradecimiento al Dr. Alejandro López Cortés, quien además de brindarme su apoyo en diversas ocasiones a lo largo de ésta investigación y sin ser parte del comité tutorial, siempre las puertas de su oficina estuvieron abiertas para mí en momentos de dificultad, inclusive en la parte final sacrificó su tiempo para revisar el manuscrito. Mis más sinceros agradecimientos al Dr. Alejandro López.

Extiendo un especial agradecimiento al Dr. Soto por confiar en mí en los momentos de mayor tensión. También al Dr. Hobson, por brindarme la oportunidad de aprender de su amplia experiencia en el campo del análisis de isótopos estables y la elaboración de artículos científicos. Así mismo al Dr. Ángel de León por su gran apoyo durante estos cinco años y su enorme paciencia, mil gracias Ángel. A la Dra. Gardner por su comprensión y apoyo, gracias Susan, y finalmente aprovecho aquí la ocasión para extender mi gratitud al Dr. Mario Martínez por aceptarme dentro del programa de superación académica del CIBNOR, e interesarse por la investigación y apoyarme para lograr los primeros resultados que fueron torales para lograr la aceptación del proyecto CONABIO.

Gracias al personal de la SEMARNAT, especialmente al Lic. Victor Lichthinger y Lic. Mario Bañuelos quienes fueron piezas fundamentales para lograr el financiamiento de la investigación, gracias. También, extiendo mis agradecimientos al personal de la Dirección de Vida Silvestre de la SEMARNAT por apoyarme en la tramitación de los permisos de colecta, en particular a la Bióloga Sandra Alcántara por ocupar parte de su tiempo en asesorarme y verificar los tramites, gracias Sandra.

Un muy especial agradecimiento al Dr. Jorge Soberon Mainero (Secretario ejecutivo de la CONABIO) por interesarse en la investigación y apoyarla. También a MVZ Sebastián Ortiz Seguí (Subdirector de Evaluación), la Biol. Martina Escamilla y Biol. Virginia Lora. También al Consejo Nacional de ciencia y Tecnología, por la beca otorgada.

Mis sinceros agradecimientos al personal de: La Reserva de la Biosfera El Vizcaíno (en especial a Benito Bermúdez y Gabriel Zaragoza). Gracias también a la compañía Exportadora de Sal S.A. de C.V. Guerrero Negro, en especial a Martín García, Tomas Murillo, por su gran apoyo en el campo. También a Ecoturismo Kuyima S.P.R. de R.L. (José de Jesus Varela, Raúl E. López G.) por su gran apoyo en la Laguna San Ignacio. Mi agradecimiento al apoyo logístico otorgado por la familia Saravia y Sergio Flores en las colectas de biopsias de Pto. San Carlos.

Quisiera dar gracias a Edith Cienfuegos y Pedro Morales (UNAM). También a la Dra. Andrea Guzmán y Dra. Lupita de la Lanza, por sus acertados consejos al inicio de esta investigación.

En California, USA, mis atentos agradecimientos a la Dra. Susan J. Chivers del NMFS-Southwest Fisheries Science Center, por su amabilidad y apoyo durante la búsqueda de equipo para tomar las biopsias de ballena gris. También mi mayor agradecimiento a la Dra. Dawn Goley, (Assisten Professor of Zoology and Marine Mammal Education and Research Program Department of Biological Sciences), a Alicia Mallo y Misty Niemeyer de Humboldt State University, por su amable hospitalidad y apoyo durante la campaña de muestreo de anfípodos del norte de California. También muchísimas gracias a Shannon Fitzgerald por su gran apoyo, amistad y su maravillosa espontaneidad.

En la Campaña de San Quintín, mis sinceros agradecimientos a Vicente Guerrero, Alicia Gastelum y Ma. De Jesús Valenzuela, muchísimas gracias por su amabilidad y hospitalidad. A Fidel Sanchez y Teresa Caraveo por su invaluable ayuda para la realización de esta campaña. Aprovecho aquí la oportunidad para dar gracias a Elvira Caraveo por todo su apoyo durante mis comisiones en México, muchísimas gracias a todos.

Dentro de la campaña de colecta de Vancouver, no hubiera sido posible sin la enorme hospitalidad del personal de University of Victoria Whale Laboratory, Dept. of Geography, University of Victoria: Dr. Dave Duffus, la M.S. Heather Patterson, Fruttschi Manon, Kecia Kerr y Brian Kopach, Very special thanks.

Dentro de la campaña del muestreo en el Mar de Bering y Chukchi, que de igual forma no se hubiera logrado sin la amable cooperación de Dra. Sue Moore (Directora del Laboratorio Nacional de Mamíferos Marinos, NOAA. El invaluable apoyo brindado por el Dr. Raymond C. Highsmith, el Dr. Ken Coyle y en general a todo el personal del barco oceanográfico R/V Alpha Helix de la Universidad de Alaska Fairbanks, muchísimas gracias. También un apoyo importante para lograr esta campaña fue la ayuda de Steven J. Hastings (Global Change Research Group) y de la enorme amabilidad de Patrick Hahn and his family, muchas gracias.

Adicionalmente manifiesto mi agradecimiento al Dr. Crawford por su apoyo y acertados comentarios a mi interpretación sobre los ácidos grasos.

Quiero agradecer al personal del CIBNOR que amablemente apoyó a la investigación directa o indirectamente. Quisiera hacer un agradecimiento al personal de Maquinados y parlería, en especial a Guillermo García Cortés y Jorge Cobos Anaya por su profesionalismo y excelente trabajo. A Norma Terrazas, Mercedes por las innumerables molestias por el teléfono, a Tony, Ana Maria, Edgar, Ester, Susana,

Chavelita, el Departamento de informática y de Redes, Ira, etc. Al Personal de Posgrado: Lety, Bety, Osvelia, Claudia, Horacio, Thelma, Lupita y Manuel. Al laboratorio de Biotecnología de microalgas, donde quisiera agradecer enormemente su apoyo a Laura Correón Palau, por su enorme experiencia en cromatografía de gases, su profesionalismo, y su amistad. Adicionalmente gracias a la Dra. Arredondo por el apoyo logístico brindado al inicio de la investigación, y a Rene Rebollar por su gran apoyo durante el corrimiento de las muestras del proyecto CONABIO. Una disculpa si he omitido a alguien.

Con afectuosos agradecimientos a todos mis amigos que participaron de alguna manera en este trabajo: Iliana, Rosy, Silvia, Juan, Mariana, Nadia, Betsy, Edna, Felipe, Dení, Nely, Hector, Adriana, Mene, Mini, Carlos Lechuga, Minerva Cerro, Ricardo Pérez, Rodolfo Pecero, Dulce y Francis Álvarez, muchísimas gracias por su amistad y su apoyo.

Gracias al P. Sergio Rentarías, Dr. José Luis Hernández, Nelly Bastida y Edna Romero, por su amor, paciencia y su disposición para que pudiese aprender a ver más allá de la continuidad de las memorias acumuladas y las murallas de mi intelecto,

Finalmente, gracias Francis, por tu paciencia, visión, tu apoyo, tu tranquilidad, humanidad, y sobre todo tu amor que emerge como cascada. Tu, mi primera experiencia sobre la sincronisidad la cual llegó para mostrarme el camino hacia la sensibilidad sin complicaciones. Gracias por estar aquí a mi lado este logro no es mío, es de ambos.

Javier Caraveo Patiño

Formato de la Tesis

El capítulo 1 proporciona una introducción global acerca de las demandas actuales que se requieren en el entendimiento de la dinámica interna de los ecosistemas, y las ventajas de los análisis de isótopos estables y ácidos grasos como herramienta para su estudio. En el capítulo 2, se sustenta teóricamente que la dinámica interna de la estructura en los ecosistemas puede ser concebida como autodeterminada, y se argumenta que el incremento anual de ballenas grises puede ser un modelo útil para estudiar ésta aproximación. El capítulo 3 presenta valores de la relación de isótopos estables de carbono analizados para la ballena gris (*Eschrichtius robustus*) en las lagunas de reproducción. Además de observaciones directas en campo de ésta actividad. Lo cual representó la primera evidencia científica que valida la hipótesis de la actividad alimenticia de la ballena gris en las lagunas de reproducción, y la existencia del vínculo biológico sugerido por el mecanismo generativo teórico planteado en el segundo capítulo. El capítulo 4 detalla una aproximación con análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno a lo largo del eje longitudinal de seis placas bucales (barbas) de ejemplares adultos y juveniles. La cual se dirigió a corroborar la ecología alimenticia de la ballena gris a lo largo del corredor migratorio. El capítulo 5 investigó la posible conexión entre la migración reproductiva de la ballena gris y el rol fisiológico del DHA (ácido docosahexaenoico), así como también de otros ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA). Esto, como el posible factor biótico que relaciona la dinámica reproductiva de este cetáceo con la dinámica local de la comunidad de las lagunas de reproducción. El capítulo 6 presenta la discusión e integración de los resultados de cada capítulo. Además, una revisión de bibliográfica sobre la función fisiológica de las LC-PUFA en otros vertebrados (peces), con la intención de justificar la incorporación de las principales conclusiones del análisis de LC-PUFA en ballena gris dentro del mecanismo generativo teórico construido en el segundo capítulo, y poder proponerlo como una guía para estudiar los factores (bióticos y abióticos) que determinan los incrementos poblacionales de cualquier vertebrado dentro de la dinámica de los ecosistemas como un todo. Finalmente, en los anexos 1 y 2 se muestran las primeras publicaciones de ésta investigación.

Índice

Capítulo	Página
I Introducción global	1
Antecedentes.....	5
• La ecología alimentaria de la ballena gris	5
• Uso de la técnica de isótopos estables dentro del estudio de la ecología Alimenticia de ballenas de barbas.....	7
• Papel filológico de los LC-PUFA en mamíferos.....	8
Hipótesis global de la investigación	10
Objetivo general del estudio	11
• Objetivos específicos.....	11
• II El incremento anual de ballenas grises (<i>Eschrichtius robustus</i>), como modelo para estudiar la dinámica interna de los ecosistemas	12
• III Valores de isótopos estables de carbono para ballena gris (<i>Eschrichtius robustus</i>) en las áreas de crianza de Baja California Sur, México.....	17
Introducción.....	17
Materiales y métodos.....	17
• Trabajo de campo	17
Trabajo de laboratorio	18
Determinaciones de $\delta^{13}\text{C}$	18
Resultados.....	21
• Observaciones de campo	21
• Análisis de $\delta^{13}\text{C}$	22

IV Ecología alimenticia de la ballena gris inferida mediante análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno de sus barbas.....	28
Introducción.....	28
Materiales y métodos.....	28
• Trabajo de campo	28
Trabajo de laboratorio	29
Resultados.....	31
V Ácidos grasos polinsaturados sincronizados con el nacimiento anual de ballenas grises.....	37
Introducción.....	37
Materiales y Métodos	38
Trabajo de campo	38
Trabajo de laboratorio	39
Resultados.....	40
VI Discusión e Integración.....	44
Conclusiones	62
Recomendaciones	64

Lista de Tablas

Tabla 1. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ en tejido queratinoso (dermis y barba) de ballena gris (<i>Eschrichtius robustus</i>), y sus valores de fraccionamiento isotópico correspondientes a su dieta (Δdt) para ^{13}C	24
Tabla 2. Valores promedio (\pm SD) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ para todas las mediciones a lo largo del eje longitudinal de las barbas de ballena gris y sus correspondiente amplitud en el rango de su fluctuación.	32
Tabla 3. Estimación del tiempo implicado entre el punto A - B y B - C representados en las Figuras 3 y 4, derivados de la tasa de crecimiento de la barba GWOO (5.9 mm/week) de ballena gris (<i>Eschrichtius robustus</i>) y el correspondiente tiempo de formación del punto B.	33
Table 4. Valores de isótopos estables de carbono ($\delta_{\text{dieta}}^{13}\text{C}$) de la dieta de ballena gris (<i>Eschrichtius robustus</i>) derivados del factor de enriquecimiento relativo al valor de $\delta_{\text{barba tejido}}^{13}\text{C}$ detectado sobre el punto B y C señalados en las Figuras 3 y 4.	34
Tabla 5. Comparaciones de contenidos promedio de ARA, EPA y DHA ($\mu\text{g FAME} \cdot \text{mg peso seco}^{-1}$; promedio \pm SD) entre las presas (anfípodos) de ballena gris (<i>Eschrichtius robustus</i>) de las áreas de verano e invierno, y entre biopsias de la capa de grasa y la dermis de ballenas madres colectadas en Bahía Magdalena.	41

Lista de Figuras

- Figura 1. Imagen de una ballena gris (*Eschrichtius robustus*), la flecha señala las placas bucales keratinosas con las que filtran su alimento..... 5
- Figura 2. Esquema de una barba de ballena gris, en el que se señala la base que representa el tejido recientemente formado, la punta el más viejo y los diferentes intervalos donde se colectó el tejido queratinoso para determinar los valores isotópicos..... 20
- Figura 3. Ruta migratoria de la ballena gris (*Eschrichtius robustus*) desde sus áreas de alimentación de verano en los mares de Bering y Chukchi, hasta la laguna más sureña de reproducción (Bahía Magdalena) in Baja California Sur, México..... 25
- Figura 4. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo de la barba de una ballena gris (*Eschrichtius robustus*): (a) variación isotópica de carbono a lo largo de la longitud de dos barbas contiguas y (b) variación isotópica de carbono a lo largo de la longitud de una..... 26
- Figura 5. Fotografías de la actividad alimenticia de ballena gris (*Eschrichtius robustus*) en Bahía Magdalena, Baja California Sur, México, en invierno del 2000. Ballena alimentándose por succión a lo largo del fondo de esta laguna (1-3). Filtrando y deglutiendo la fauna bentónica (4). Sedimentos siendo expulsados de la boca durante la filtración (5). Huellas de sedimento suspendidas sobre la superficie causada por la alimentación de la ballena en el fondo (6)..... 27
- Figura 6. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del eje longitudinal de las barbas de ballena gris (*Eschrichtius robustus*)..... 35

Figure 7. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ a lo largo del eje longitudinal de las barbas de ballena gris (<i>Eschrichtius robustus</i>).....	36
Figura 8. Contenidos promedios (\pm ES) de ARA, EPA, y DHA de biopsias de la capa de grasa y la dermis de madres de ballena gris (<i>Eschrichtius robustus</i>) colectadas en Bahía Magdalena. Barras verticales indican el error estándar, n=10 para la capa de grasa (a), n=11 para las dermis (b).	42
Figura 9. Contenido promedio (\pm ES) de ARA, EPA, y DHA de las presas de ballena gris (<i>Eschrichtius robustus</i>). Las barras verticales indican el error estándar; n=12 para anfípodos del Mar de Bering (a), n=5 para los mysidáceos (b) y n=5 para anfípodos (c) de la Isla Vancouver, n=10 para anfípodos de Bahía San Quintín, Baja California (d), y n=3 para anfípodos de Bahía Magdalena, Baja California Sur (e).....	43

ABREVIATURAS

ARA: ácido araquidónico.

EPA: ácido eicosapentaenoico.

DHA: ácido docosahexaenoico.

LC-PUFA: ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (ARA, EPA y DHA)

ALA: ácido α -Linolenico.

δ : Los datos del espectrómetro de masas para relación de isótopos (IRMS en ingles) son reportados como valores de δX (donde X representa el isótopo más pesado ^{13}C , ^{15}N o ^{34}S), o también diferencias con respecto a un estándar determinado, expresado en partes por mil.

Δ_{dt} : Factor de enriquecimiento trófico.

‰: partes por mil.

HCl: ácido clorhídrico.

%: porcentaje.

cm. centímetro.

m: metro.

°C: grados centígrados.

mg: miligramos.

m²: metro cuadrado.

µg: microgramos.

FAME: esteres de metilo de ácidos grasos.

ES: error estandar.

GLOSARIO:

$\delta^{13}\text{C}$: proporción de ^{13}C y ^{12}C con respecto a la proporción de un estándar; normalmente es el carbonato de calcio producido por un fósil del cretácico (*Belemnitella americana*), un animal con una concha interna como en calamares, que es lo que se encuentra como fósil.

$\delta^{15}\text{N}$: proporción de ^{15}N y ^{14}N con respecto a la proporción de un estándar; normalmente es el AIRE.

Δ_{dt} : Δ es el cambio que ocurre en la relación de isótopos in la reacción de un substrato A al producto B, por tanto, Δ_{dt} es el cambio en la señal isotópica entre la dieta y el tejido de un consumidor.

Fraccionamiento isotópico: cambio en la señal isotópica entre la dieta y el tejido de un consumidor.

Sistemas (*M.R.*): Una perspectiva teórica para modelar el metabolismo celular, la cual distingue dos entidades (componentes y materiales de entrada y de salida). Dado que las componentes representan la acción del metabolismo, su acción es denominada metabólico (la *M* en (*M.R.*)), y como en la realidad de los sistemas vivos los compuestos metabólicos M_j tienen un tiempo de vida, cada M_j , debe tener asociado un subsistema de reposición R_j que repare cada componente M_j (la *R* en (*M.R.*)).

Sistema *autopoiético*: *Auto* = si mismo y *poiesis* = generacion o producción; es una construcción teórica sobre la naturaleza de los sistemas vivos, contemplando dos nociones principales: La organización circular del metabolismo y una redefinición del concepto de *estructura* y *organización*. Entendiendo como organización circular: al hecho que las moléculas orgánicas forman redes de reacciones que producen a las mismas moléculas de las que están integradas. Tales redes e interacciones moleculares que se producen a si mismas y especifican sus propios limites son los seres vivos, es decir sistemas *autopoiéticos*. Entendiendo como *organización* de un sistema *autopoiético* el patrón o configuración de procesos entre componentes de un sistema que lo definen como miembro de una particular clase de sistema; y *estructura* a la materialización de estos procesos en entidades específicas de materia.

Capítulo I

Introducción global

Recientemente científicos que estudian ecología, están comenzando a aceptar que mucho del énfasis en esta disciplina ha sido sobre el señalamiento de grandes diferencias entre distintas clases de organismos y ecosistemas, y sobre la extensiva variación espacial y temporal dentro de los ecosistemas (1). Ahora la existencia de algunos patrones macro ecológicos y procesos mecánicos que involucran diversos taxa y sistemas ecológicos (2), enfatizan la necesidad de considerar algunos componentes metabólicos (por ejemplo los ácidos grasos esenciales) como un factor clave en el entendimiento de la dinámica interna de los ecosistemas. Esta necesidad ha sugerido emocionantes perspectivas para la unificación conceptual, también conexiones mecánicas entre el metabolismo de organismos individuales y el rol de éstos en el ecosistema como un todo, bajo un mismo lenguaje conceptual. Una de tales perspectivas es la Biocomplejidad, la cual recientemente ha recibido gran atención por algunos investigadores (3-7), y particularmente definida por Rita Colwell como “Una aproximación multidisciplinaria para entender el ambiente de nuestro mundo” anexando que “por generaciones, los científicos hemos estudiado de manera separada cada parte de nuestro sistema ambiental, las especies individuales y los hábitat. Ahora, es tiempo de un mejor entendimiento de como esas partes trabajan juntas como un todo” (8). Sin embargo, la creación de éste tipo de perspectivas data de mediados del siglo pasado. Por ejemplo, la teoría Cibernética (9), la teoría general de sistemas (10), y el campo moderno de la vida artificial (11), los cuales son tres cuerpos teóricos bien conocidos que han servido como perspectiva general para describir el fenómeno biológico (12).

La perspectiva de la unificación conceptual dentro de la Biocomplejidad o la teoría de sistemas, enfatiza la necesidad de hacer aproximaciones científicas multidisciplinarias, las cuales a menudo dan una visión más profunda en el entendimiento de los ecosistemas que investigar una hipótesis en distintas disciplinas

separadamente. Por ejemplo, uno de tales esfuerzos fue hecho por Browman (13), quien investigó el llamado periodo crítico del reclutamiento de peces. Otro esfuerzo igualmente satisfactorio, se ha realizado dentro de la importancia nutricional de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga [LC-PUFA, es decir los ácidos araquidónico (ARA, 20:4 n-6), eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3)], con especial atención en los avances sobre la función fisiológica del DHA que ha sido intensamente estudiado en el campo de la medicina.

Ahora se acepta que las células con función neuronal, fotorreceptora, y reproductora como los espermatozoides, están relacionadas con el contenido global del DHA celular. En humanos y otros mamíferos terrestres (como cerdos y ratones) ha sido demostrado, que el DHA puede ser sintetizado a partir de su precursor el ácido α -linolenico (18:3 n-3, ALA) a través de procesos de elongación y de saturación, y que a pesar que estos animales pueden tomar ALA para sintetizar DHA, los estudios actuales sobre el rol fisiológico de DHA sugiere que para estos animales es más eficiente tomar DHA como tal, que tomar precursores (14). Una interesante aproximación científica, que resultó de la revisión de éste tema a través de diferentes campos científicos, ha sugerido que el DHA posiblemente ha jugado un rol crítico en la evolución del cerebro humano (15).

Dentro del estudio del ambiente marino, la importancia del DHA ha sido estudiada en disciplinas como la acuicultura y la nutrición de peces. Se ha concluido que la alimentación de DHA es crucial para un satisfactorio cultivo en las larvas de peces marinos, dado que la mayoría de ellas no pueden sintetizar DHA a partir de sus precursores moleculares (16). Sin embargo, en estudios ecológicos este tema ha tenido un impacto limitado. Algunos científicos recientemente están empezando a considerar el DHA y otros LC-PUFA como un factor clave para el entendimiento de los ecosistemas, ellos han sugerido que están intrincados con procesos fisiológicos y bioquímicos claves, por lo que son una propiedad relacionada con el funcionamiento y regulación de los

ecosistemas (17). Una satisfactoria revisión multidisciplinaria realizada sobre el conocimiento actual del DHA en los ecosistemas marinos y terrestres, desde organismos como las bacterias hasta el propio ser humano concluye, “elucidar las fluctuaciones potenciales de la producción de DHA en los ecosistemas marinos es de alta prioridad en vista de la importancia crítica de esta molécula tanto en los ecosistemas marinos como en los terrestres” (18). Lo cual alienta la consideración teórica de posibles conexiones mecánicas entre el metabolismo individual de los organismos y el funcionamiento de éstas moléculas en los ecosistemas, así como también la existencia de un flujo de ellas dentro de las redes alimenticias, y quizás, una red metabólica global.

Sin embargo, para entender la dinámica de la estructura de las redes alimenticias y los ecosistemas, es esencial elucidar las relaciones tróficas. En el pasado, normalmente esta información se ha estudiado en base a observaciones en campo, o a los tradicionales análisis de observaciones visuales al microscopio de contenidos estomacales e intestinales. Identificando así el espectro trófico de cada una de las especies que integran las estructuras. Sin embargo, actualmente es comúnmente aceptado que estos métodos presentan algunas desventajas. Por ejemplo, no proporcionan evidencia que lo que se observa es lo que se ha digerido y/o asimilado. En otros casos, fallan en la identificación definitiva del origen del material orgánico particulado. El avance de la tecnología y la aproximación multidisciplinaria cada vez mayor en el análisis de los fenómenos biológicos, han permitido en la actualidad emplear en paralelo otras metodologías para corregir tales desventajas. Como el uso de análisis de isótopos estables y ácidos grasos.

Con lo anteriormente expuesto, y considerando que para estudiar los procesos que involucran la ecología alimenticia de una especie en la dinámica interna de los ecosistemas, es importante saber si el suplemento alimenticio solo depende de su monto total, o también de cierta composición cualitativa. Quizás por que se requiere satisfacer ciertos compuestos nutricionales específicos para una condición fisiológica en

particular. El análisis de isótopos estables y el conocimiento sobre la función fisiológica de los LC-PUFA representa una herramienta de gran utilidad para poder estudiar una posible conexión mecánica entre el metabolismo individual de los organismos (por ejemplo un mamífero como una ballena), y el funcionamiento de éstas moléculas en los ecosistemas, así como también la existencia de un flujo dentro de las redes alimenticias.

Por tanto, el propósito de este estudio fue el de investigar la ecología alimenticia de la ballena gris mediante isótopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$), y su posible conexión con un flujo de ácidos grasos esenciales (DHA, ARA y EPA) a través de su dieta en las lagunas de reproducción. Ello como un factor clave para describir la interacción entre el incremento anual de esta especie, su ecología alimenticia, su movimiento reproductivo hacia las lagunas de reproducción en México y la dinámica interna en la estructura del ecosistema. Además de explorar la unificación de los marcos teóricos mencionados en una sencilla construcción teórica, con el fin de investigar la posibilidad de generalizar mediante un mecanismo generativo teórico, hacia cualquier nivel dentro de la estructura comunitaria de cualquier ecosistema.

Antecedentes

La ecología alimentaria de la ballena gris

La ballena gris *Eschrichtius robustus*, pertenece al suborden de los misticetos (ballenas de barbas), es decir cetáceos que carecen de dientes. Estas ballenas cuentan con una fila de placas largas y flexibles de tejido queratinoso sostenidas en la mandíbula superior, las cuales se conocen con el nombre de barbas, como lo señala la flecha de la figura 1.

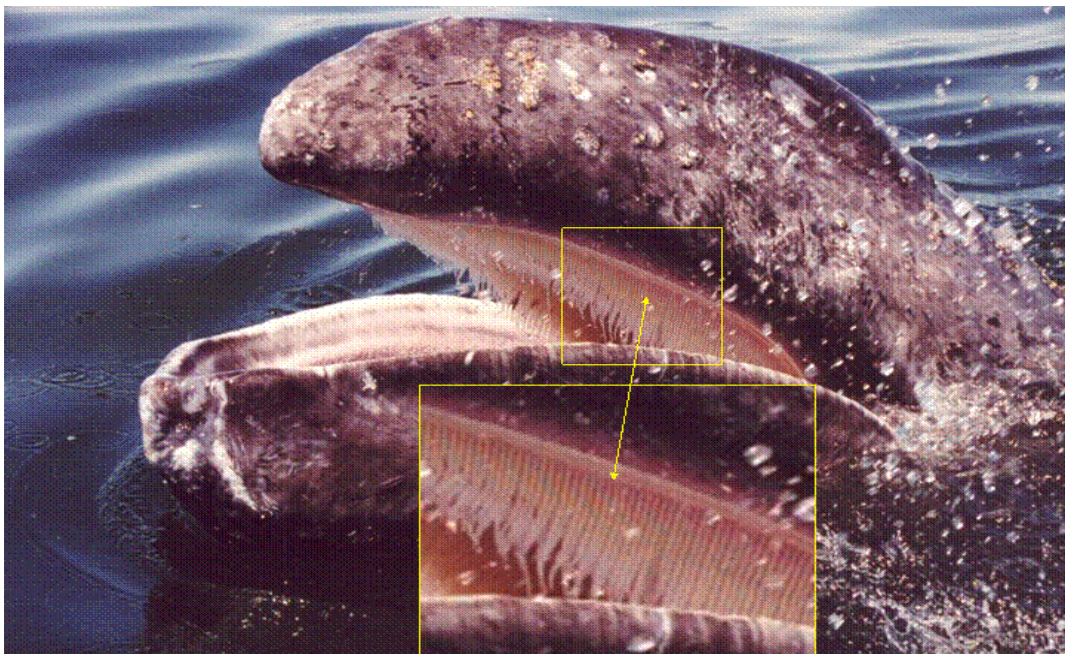


Figura 1. Boca de un ballenato de ballena gris (*Eschrichtius robustus*) tomada por Patty Geary. La flecha amarilla señala las estructuras queratinosas que usa para filtrar su alimento, denominadas comúnmente como barbas (baleen en inglés).

Estas estructuras miden menos de 50 cm. de largo y funcionan como filtros con los que estas ballenas retienen su alimento, el cual está constituido principalmente por pequeños crustáceos (anfípodos) extraídos normalmente del fondo marino. Estos mamíferos habitan en zonas de baja profundidad, por lo que son predominantemente costeros. Existen dos bancos de ballenas grises en el Pacífico Norte: el banco del

Pacífico Este o banco de California, y el banco del Pacífico Oeste, conocido como banco Coreano, o Asiático.

La dinámica reproductiva del banco de ballenas grises del noreste del Pacífico, contempla un movimiento a lo largo de la costa oeste de Norte América desde sus áreas de alimentación de verano en el norte del mar de Bering y al sur del mar de Chukchi hasta las áreas de crianza en Baja California Sur, México (23). Se considera que su principal fuente de alimento de este banco son los anfípodos de la familia Ampeliscidae (*Ampelisca macrocephala*), los cuales dominan la comunidad bentónica en grandes zonas del norte del mar de Bering y sur de Chukchi (26-27). Es comúnmente aceptada la idea que la mayoría de las ballenas anualmente dejan estas áreas de alimentación en otoño y migran a Baja California Sur, donde el alumbramiento y la crianza ocurre (25, 28). Por tanto, el principal propósito de su migración es permitir alimentarse en las áreas norteñas de alta productividad de anfípodos, y al sur, la ubicación de un adecuado ambiente para la reproducción en aguas relativamente tibias y seguras de depredadores (29-33). Las áreas de crianza las constituyen tres lagunas sobre la costa oeste de Baja California Sur: Laguna Ojo de Liebre, Laguna San Ignacio, y Bahía Magdalena.

Aunque ha sido registrada actividad alimenticia de la ballena gris a lo largo de la costa del corredor migratorio (34-37), actualmente existe la noción de que la ballena gris no se alimenta sobre las áreas donde pasa el invierno, debido a la ausencia de evidencias como material fecal, huellas en el fondo de actividad alimenticias, y cantidades significativas de presas potenciales (38).

Una serie de observaciones hechas por algunos autores en las lagunas de crianza (38-44) o a lo largo de la costa este de la península de Baja California (45) han revelado una aparente actividad alimenticia dentro de estas áreas de invierno, y ha adicionado un mayor soporte a la teoría original de Walker (39-40) de que las ballenas grises se alimentan en el fondo de las lagunas de reproducción (Ojo de Liebre y Bahía Magdalena), y posiblemente la alimentación en el fondo está relacionada con la leche

que las madres ofrecen a las crías. Sin embargo, para sustentar tal afirmación son necesarias más evidencias.

Uso de la técnica de isótopos estables dentro del estudio de la ecología alimenticia de ballenas de barbas.

La técnica de isótopos estables es una de las nuevas metodologías empleadas en el estudio de las interacciones tróficas, se basa en la naturaleza de ciertos elementos que pueden presentar una variación en su masa (diferentes pesos atómicos). Esta variación en los elementos se conoce comúnmente como isótopos, y se denominan isótopos estables aquellos que no cambian con el tiempo. Estas variaciones del peso atómico en los elementos pueden ser identificadas con un espectrómetro de masas para la detección de la relación de isótopos (IRMS por su nombre en inglés, isotope ratio mass spectrometry). Bajo este escenario todas las moléculas, sustancias, tejidos u organismos completos reflejan una proporción única (o “signature” en inglés) según la proporción de isótopos estables de uno u otro peso atómico.

Normalmente esta herramienta ha sido usada en estudios Geo-químicos, pero cada vez es mayor su empleo dentro de la Ecología, usando normalmente el C y el N, aunque también se han empleado otros elementos como el sulfuro, hidrógeno y oxígeno entre otros. Ambos, C y N, existen en dos formas estables. El Carbono se encuentra principalmente como ^{12}C (98.89%), o como ^{13}C (1.11%). El nitrógeno, como ^{14}N (99.64%), o como ^{15}N (0.36%). Los diferentes isótopos estables de un elemento pueden presentar las mismas propiedades químicas fundamentales, sin embargo difieren en su tasa de difusión y evaporación, como una característica directa de su masa atómica. En consecuencia, termodinámicamente también presentan diferencias, las cuales causan reacciones en los procesos bioquímicos a tasas ligeramente diferentes (46). De esta manera, un cambio en la señal isotópica entre la dieta y los tejidos de un consumidor se define como un fraccionamiento isotópico, y ocurre por dos procesos: uno, por la asimilación bioquímica selectiva de los componentes de la dieta con variación en los

valores isotópicos, y dos, por una discriminación isotópica (47). Por tanto, los estudios de las dietas mediante análisis de isótopos estables hacen referencia a valores intrínsecos en los tejidos, los cuales permiten delinear el nivel trófico del consumidor, la ubicación donde ocurrió la alimentación, y la importancia de diferentes presas contenidas en la dieta (48-50).

Por otro lado, se ha demostrado que los valores isotópicos de las redes alimenticias pueden variar espacialmente debido a factores bióticos y abióticos, y que éstas variaciones se registran en los tejidos si el animal se mueve entre redes alimenticias que isotópicamente difieren entre sí (51--52). La información retenida de la dieta por el animal se relaciona con la composición isotópica de cada red alimenticia usada, la cual también depende de la tasa elemental de recambio de los tejidos en cuestión (53-54). Por tanto, tejidos queratinosos (como el cabello, uñas, bigotes o barbas de ballenas) son metabólicamente inactivos, por lo que mantienen un registro isotópico relativamente de largo plazo que refleja las redes alimenticias donde el tejido fue sintetizado (55-56). Estas técnicas han sido usadas para estudiar la composición isotópica de las barbas de algunas ballenas, con el fin de analizar patrones de alimentación y crecimiento (57-58). Estos autores han demostrado que los ejes longitudinales de las barbas de *Balaena mysticetus* y *Eubalaena australis* proporcionan un registro isotópico a largo plazo sobre los patrones estacionales del consumo de alimento, y han concluido que tales cambios reflejan el movimiento anual de estos organismos entre fuentes de alimento que difieren en su composición isotópica.

Papel fisiológico de los LC-PUFA en mamíferos

El uso de los ácidos grasos en la ecología, se sustenta en que existe una composición y síntesis específica de ciertos ácidos grasos entre distintos grupos taxonómicos (59-60). De esta manera en los ecosistemas marinos los lípidos de las cadenas alimenticias están caracterizados en una colección compleja de ácidos grasos, la

cual se ha detectado que ocurre en una interrelación específica dependiendo de las especies de las presas y su localización geográfica (61).

El análisis de estas moléculas ha sido normalmente empleado tanto en ecosistemas acuáticos (e.g. 62-63), como marinos (e.g. 64-66), para delinear las relaciones tróficas en los ecosistemas.

Particularmente en mamíferos marinos, primeramente se dio mucho énfasis en el señalamiento de la composición de ácidos grasos del tejido adiposo (67), las diferencias entre clases de tejidos de especies y poblaciones, y entre crías y adultos. Recientemente el esfuerzo se ha dirigido sobre el estudio de las dietas, la cual puede ser deducida por los análisis de sus tejidos adiposos, bajo el conocimiento que los ácidos grasos en los lípidos de las presas son transferidos sin cambio en sus montos relativos dentro de este tejido que forma la capa de grasa del depredador (68-73). Por ejemplo, en focas se ha reportado que los ácidos grasos con cadenas de 14 carbonos o mayores son depositados en el tejido animal con poca modificación respecto a su dieta (69). También que en ejemplares en crecimiento la capa de grasa se puede considerar como un reflejo de la composición de la dieta (74). En hembras lactantes, se ha concluido que los ácidos grasos de la leche son derivados grandemente por la movilización de los lípidos de la capa de grasa durante el periodo de ayuno, sin embargo, cuando se alimentan provienen principalmente de la dieta (e.g. 68, 74-75). Por tanto, el papel fisiológico de DHA ha sido desatendido en comparación al avance alcanzado en otros campos como la medicina y la acuicultura.

La noción teórica que involucra el DHA en el incremento anual de ballenas grises puede ser sustentada debido a que actualmente se sabe que el DHA, en conjunto con el ARA y el EPA, juega funciones torales en la fisiología de los mamíferos. El ARA y EPA son precursores de otras moléculas denominadas eicosanoides, las cuales contribuyen con el mantenimiento de la estructura y función celular (76), a su vez ARA y DHA son particularmente abundantes en el cerebro, y son una pieza fundamental para

el desarrollo del sistema nervioso central (CNS) (77-81). A pesar de que el conocimiento previo ha sido obtenido de estudios con mamíferos terrestres en el campo de la medicina, en otras disciplinas como la acuicultura y la nutrición de peces se ha concluido también que el tema de DHA en el desarrollo neuronal debe ser considerado para todas las especies de peces, ya sean marinos o terrestres (y posiblemente para todos los vertebrados), por lo que ahora es completamente aceptada la idea que es indispensable proveer un adecuado nivel en la dieta de DHA para todos los estadios tempranos de peces (16).

Hipótesis global de la investigación

La sobrevivencia de las ballenas grises que nacen anualmente, está relacionada con un flujo de carbono dirigido a satisfacer una necesidad específica de LC-PUFA, mediante una interacción trófica entre la ballena gris y la comunidad de las lagunas de reproducción.

Objetivo General del Estudio

El principal propósito de este estudio fue valorar la existencia de un flujo de carbono entre el incremento anual de ballenas grises y la comunidad de las lagunas de reproducción. Mediante el análisis de isótopos estables y LC-PUFA, entre sus tejidos y sus presas, con la intención estudiar una posible conexión biológica entre el metabolismo individual de la ballena gris, y el flujo de éstas moléculas en los ecosistemas.

Objetivos Específicos:

1. Crear un mecanismo generativo teórico, que permita la conexión biológica entre la comunidad de las lagunas de reproducción de la ballena gris, el incremento anual de ballenas grises y la dinámica interna de la estructura de los ecosistemas.
2. Proporcionar evidencia de actividad alimenticia de ballena gris en las áreas de crianza de Baja California Sur.
3. Proveer evidencia de actividad alimenticia de la ballena gris a lo largo de su corredor migratorio.
4. Investigar la posible conexión entre la función fisiológica del los LC-PUFA, la sobrevivencia dentro del nacimiento anual de ballenas grises y la dinámica interna de la estructura del ecosistema que involucra el movimiento reproductivo de esta especie hacia las lagunas de crianza en México.

Capítulo II

El incremento anual de ballenas grises (*Eschrichtius robustus*), como modelo para estudiar la dinámica interna de los ecosistemas.

Uno de los problemas para considerar una unión entre el DHA y otros LC-PUFA con los procesos que gobiernan la estructura y la organización en los ecosistemas marinos como un todo, es que normalmente se asume que la variación espacial y temporal de la estructura de los ecosistemas, resulta en gran parte por los factores abióticos (ejemplo fluctuaciones físicas de los océanos y del clima). Por lo que resulta común que las teorías en ecología no se refieren al aspecto central de la organización biológica, sino más bien a las aplicaciones de resultados provenientes de la física a fenómenos del mundo biológico (12). Por tanto, ¿Cómo puede ser superado este problema para descubrir las características holísticas que determinen la estructura organizacional fundamental, y la interconexión metabólica entre los procesos biológicos en el ecosistemas como un todo?

Considerando la ideología de Boden presentada en 1999 acerca del metabolismo (19), en la que asume propiamente que “el metabolismo es un tipo de material con auto-organización la cual envuelve el uso autónomo de la materia y la energía en la construcción del crecimiento, desarrollo y el mantenimiento de la fabrica corporal de los sistemas vivos”, los marcos teóricos menos impactantes acerca de la fenomenología de los sistemas vivos [como los sistemas (MR) (20) y los sistemas autopoieticos (21)], resultan útiles como una perspectiva general que permite describir los fenómenos biológicos en los ecosistemas con un nuevo punto de vista, el cual permita relacionar los aspectos de la *organización central* de la biología de los sistemas vivos, y la dinámica interna de la estructura de los ecosistemas en una sencilla construcción teórica. La cual permita unificar las teorías metabólicas ubicadas en diferentes marcos conceptuales y lenguajes (la biología teórica, fisiología, ecología, física, bioquímica, matemática, etc.).

Los sistemas (MR) y los sistemas autopoieticos coinciden por el foco inicial de su teoría, que es el metabolismo celular, ambos sobresalen en el campo de la biología teórica por su principal objetivo el cual es definir la causalidad circular como el núcleo de la organización biológica en los sistemas vivos, por la nueva epistemología que ello implica y su objetividad sobre los detalles estructurales (12). Sin embargo, es interesante notar que en biología el impacto actual de ambas teorías ha sido limitado. Ni los sistemas autopoieticos ni los sistemas (M.R.) han sido usados para explicar algún hallazgo experimental o predecir un fenómeno biológico nuevo, lo cual posiblemente refleje el hecho de que ambas teorías están incompletas en el aspecto fundamental de cómo plantear sus conceptos teóricos (ejemplo estructura, organización, unidad, componentes, etc.) con entidades experimentales (12).

En la ecología es aceptado que para entender la estructura y función de los ecosistemas, es crucial determinar cuales procesos controlan la abundancia, distribución y diversidad de las especies. Ha finales de los noventa, en un esfuerzo para entender los procesos que gobiernan la estructura y dinámica de una comunidad de anfipodos bentónicos, Caraveo-Patiño (22) mostró una explicación que resultó del análisis temporal y espacial de la dinámica de tal comunidad. Esta perspectiva, considera que los factores bióticos y abióticos interactúan en cualquier comunidad como un todo para determinar la dinámica interna de su estructura, y postula, dos principales nociones: uno, que en cualquier comunidad los factores abióticos solo determinan las coordenadas en espacio y tiempo donde posiblemente emerja un cambio en la estructura comunitaria, y dos, que la función de los factores bióticos (es decir, las interacciones Inter. e intraespecificas), determinan la magnitud del cambio en tales coordenadas de espacio y tiempo. La perspectiva anterior implica que en cualquier comunidad la dinámica interna de la estructura es autodeterminada como la dinámica interna del sistema es asumida en los sistemas autopoieticos. Por tanto en ambas perspectivas, la magnitud de los cambios internos en la estructura está definida por la dinámica interna, y no por las

perturbaciones externas del ambiente. En los sistemas autopoieticos ello quiere decir que el ambiente no informa, instruye o define la dinámica interna, éste solo la perturba; es decir, el sistema especifica su propio estado interno y el dominio de sus cambios, los eventos externos actúan como perturbaciones que solo latigean los cambios internos (12). Dado que la magnitud y la dirección de éstos cambios están definidos por la dinámica interna de los sistemas autopoieticos y no por las perturbaciones externas (23). Desde la perspectiva de Caraveo-Patiño (22), el ambiente define las coordenadas en tiempo y espacio en donde es posible que emerjan cambios en la estructura comunitaria, es decir, la probabilidad que éstos ocurran. Dado que la magnitud de éstos cambios están definidos por la dinámica interna de la estructura (es decir, las interacciones entre y dentro de las especies).

La importancia crítica del DHA tanto en los ecosistemas marinos como terrestres (15, 17) alientan la consideración de las perspectivas antes mencionadas, así como también la necesidad de investigar la siguiente pregunta: ¿Es posible asumir en los ecosistemas que la dinámica interna de la estructura debe ser concebida de manera autodeterminada, como en la comunidad bentónica estudiada por Caraveo-Patiño o la perspectiva teórica de los sistemas autopoieticos?

Una manera de comenzar a responder la pregunta anterior, es la construcción teórica de un mecanismo generativo; es decir, un sistema conceptual de ideas, que en su operar (o funcionar) genere el fenómeno involucrado en la pregunta (24). Lo que permitiría evitar la vaguedad o la exageración en los alcances de la investigación, ya que tal mecanismo es una posible respuesta (hipótesis), y también una guía en la actividad heurística dirigida a sustentar esta posible respuesta (82).

Por lo tanto, si se concibe a un ecosistema como un sistema autodeterminado, los cambios en su estructura interna deben ser imaginados como autodeterminados también. Bajo este dominio explicativo se puede postular, que el ambiente abiótico define las coordenadas en espacio y tiempo donde posiblemente emerja un cambio en la estructura

comunitaria, y las interacciones entre y dentro de las componentes que integran la estructura biológica del ecosistema (los factores bióticos), determinan la magnitud del cambio en tales coordenadas de espacio y tiempo.

Con la comparación anterior en mente, es posible formalizar que cada especie puede ser concebida como una de las unidades que definen la estructura biológica del ecosistema, y un incremento en el número de individuos de cualquiera de ellas como un cambio dentro de su estructura. En este contexto, dado que las especies representan unidades, cada incremento poblacional puede reflejar una interacción biológica en el ecosistema, más o menos compleja, dependiendo del espacio y el tiempo ocupado para el evento.

En consecuencia, el modelo más simple para examinar esta aproximación teórica en cualquier ecosistema podría ser el incremento en número de individuos de alguna de sus especies, el cual ocurra solo en una coordenada de espacio y tiempo dentro de la dinámica interna de la estructura global del ecosistema. Dentro de la dinámica interna de la estructura biológica del ecosistema Tierra, el incremento anual de ballenas grises puede ser uno de esos modelos, debido al hecho que ocurre solamente una vez al año, en invierno, y en un área particular, la Península de Baja California Sur, México. Evento que resulta más interesante pues implica el movimiento reproductivo más grande dentro de los mamíferos.

En conclusión, el nacimiento y sobrevivencia de las ballenas grises desde la perspectiva teórica del postulado anterior, implica que el cambio en la estructura de la comunidad global del ecosistema tierra, como efecto de éste fenómeno anual, es resultado de la dinámica interna del sistema (o una interacción entre la ballena gris con otra unidad de vida (o especies) de las lagunas de reproducción), más que a partir de una fluctuación climática y un cambio oceanográfico físico del ambiente por separado.

No obstante que el principal interés del planteamiento teórico anterior, es investigar la factibilidad de asumir para cualquier ecosistema, que la dinámica interna

de la estructura es autodeterminada. El primer paso que demanda el mecanismo generativo aplicado a la ballena gris, es el de corroborar la existencia de un flujo de carbono entre el incremento anual de ballenas y la comunidad de las lagunas de reproducción. El cual posiblemente esté dirigido a satisfacer una necesidad específica de LC-PUFA, mediante una interacción trófica con la comunidad de las lagunas de reproducción.

Capítulo III

Valores de isótopos estables de carbono para ballena gris (*Eschrichtius robustus*) en las áreas de crianza de Baja California Sur, México.

Introducción

En este capítulo, fue investigada la dieta de la ballena gris mediante mediciones de la relación de isótopos estables de carbono tanto en las barbas como en muestras de dermis colectadas de ejemplares dentro de las áreas de crianza, así como también en sus potenciales presas bentónicas encontradas en estas áreas. Adicionalmente, en la barba de un ballenato encontrado varado en estas áreas (aproximadamente un año de edad) fueron evaluados cambios estacionales en la localidad de alimentación y la ruta migratoria de la ballena gris desde Alaska hasta las lagunas de reproducción en México mediante el análisis de isótopos estables de carbono. Se valoró la creencia que supone que las ballenas grises no se alimentan cuando pasan el invierno en Baja California Sur mientras crían a sus ballenatos. Bajo la hipótesis que las fuentes de alimento en las áreas de verano probablemente difieren isotópicamente de aquellas áreas donde pasan el invierno, por lo que es de esperarse que los patrones de isótopos estables de carbono en las barbas pudieran revelar el origen de la transferencia de nutrientes hacia los animales jóvenes mientras fueron criados.

Materiales y métodos

Trabajo de campo

Bahía Magdalena (Figura 1), fue recorrida durante la estación de crianza en el año 2000 para documentar la conducta alimenticia de la ballena gris. Como primer intento fue usada una cámara submarina y equipo de buceo libre para generar un registro fotográfico de la actividad alimenticia de este cetáceo debajo del agua en las áreas de crianza.

Para corroborar los resultados del intento anterior, fueron extraídas biopsias de piel de siete ballenas grises foto identificadas alimentándose. Ello para realizar un análisis de isótopos estables de carbono. Las muestras de tejido fueron tomadas con una ballesta y un dardo para biopsia de acero inoxidable (2.5 cm largo y 0.6 cm de diámetro) hueca, previamente esterilizada con fuego. Fueron envueltas en bolsas plásticas estériles y congeladas después de la colecta. Cuatro muestras del bentos fueron también tomadas con una draga tipo Ekman (0.02 m²) en cuatro áreas de reciente actividad alimenticia de ballena gris. Estas muestras fueron juntadas para homogenizar la variación local y entonces fueron lavadas con agua de mar a través de un tamiz con luz de malla de 0.5 mm. Una submuestra fue preservada en formol neutralizado al 5% para identificar la fauna bentónica. Durante la transportación, tanto las muestras de tejido como las de la fauna bentónica fueron mantenidas en hielo, y congeladas después de llegar al laboratorio (-20°C).

En la misma estación de ballenas del año 2000, diferentes sitios de Bahía Magdalena fueron recorridos en busca de ballenas varadas. De una ballena joven (8.5 m de longitud) varada en Punta Patos se colectó un conjunto de barbas (series). Las barbas de las placas fueron separadas de la mandíbula incluyendo el tejido formado recientemente (encía).

Trabajo de laboratorio

Determinaciones de $\delta^{13}\text{C}$

No fueron removidos los lípidos de la fauna bentónica ni tampoco de las biopsias de dermis para el análisis de isótopos estables. Por tanto, los valores medidos $\delta^{13}\text{C}$ representan la composición total de los especímenes bentónicos y de la dermis. En el punto próximo a la capa de grasa de cada una de las biopsias de piel, fueron tomadas transversalmente a través del cilindro de piel pequeñas submuestras de la dermis usando una punta para biopsias de acero inoxidable hueca de 0.8 cm de largo y 0.2 cm de diámetro, previamente limpiada con fuego. Cada muestra de dermis y de fauna

bentónica fue liofilizada y pulverizada en un mortero de ágata, y juntada nuevamente en un polvo finamente homogenizado. Una submuestra de 10-20 mg fue analizada para determinar el valor de $\delta^{13}\text{C}$.

Usando la estrategia de Schell y Saupe (55), se probó la consistencia de la relación de isótopos estables de carbonos ($\delta^{13}\text{C}$) en la sección transversal de una de las barbas de mayor longitud del conjunto colectado. Aproximadamente a 1 cm desde la base, cuatro muestras fueron tomadas usando un bisturí, tijeras y pinzas (previamente lavadas con 30% HCl) a través de la placa, en intervalos de ~1 cm. Cada muestra fue colocada en un vial limpio, después de haber sido lavada con 30% HCl y enjuagada con agua destilada. Posteriormente cada una fue liofilizada y pulverizada en un mortero de ágata, para juntar nuevamente la muestra en un polvo finamente homogenizado del cual una submuestra de 10-20 mg fue analizada para determinar el valor de $\delta^{13}\text{C}$.

Dado que los patrones isotópicos de los ejes transversales permiten una concordancia visual entre placas adyacentes, se puede concluir que muestras pareadas son entonces depositadas al mismo tiempo (55). Por ello, fueron examinados los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre dos barbas adyacentes (las más grandes de la mandíbula colectada, 26 y 27 cm en longitud). Estas barbas fueron alineadas en sus lados y 6 submuestras de (10-20 mg) fueron tomadas de una posición equivalente a lo largo de cada placa.

Para examinar los valores del $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del eje longitudinal de las barbas, 10 submuestras (10-20 mg) de la región externa de una barba fueron tomadas, siguiendo el eje longitudinal a intervalos de 1 cm aproximadamente como se muestra en la Figura 2.

Los valores de isótopos estables fueron determinados usando un espectrómetro de masas triple-colector (MAT 250) con una precisión de ± 0.2 ‰, y usando los métodos de Cienfuegos et al (83).

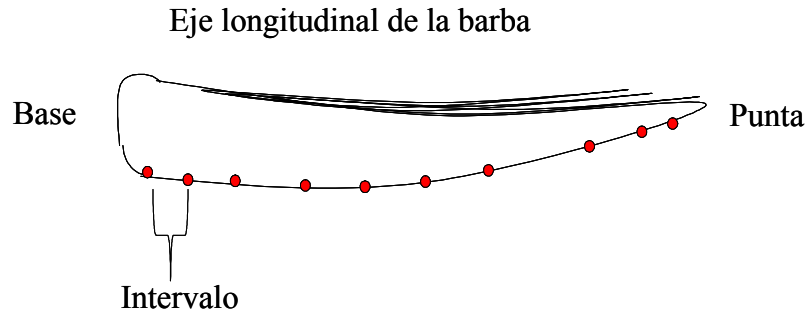


Figura 2. Esquema de una barba de ballena gris, en el que se señala la base que representa el tejido recientemente formado y la punta el más viejo. Los puntos rojos representan los sitios donde se obtuvo el tejido queratinoso para determinar los valores isotópicos, los cuales se distribuyeron a lo largo del eje longitudinal a intervalos aproximadamente semejantes.

La relación de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ fue reportada en la notación convencional δ , como partes por mil (‰), donde la relación de la muestra es comparada con la del carbonato estándar de PeeDee Belemnite (PDB) como:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \frac{R_{\text{muestra}} - R_{\text{estandar}}}{R_{\text{estandar}}} \times 1000$$

donde R_{muestra} y R_{estandar} son las relaciones correspondientes de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de las muestras y el estándar.

Dado que la relación de isótopos estables para el tejido de un animal (δ_{tejido}) es directamente relacionado a la de su dieta (δ_{dieta}) como $\delta_{\text{tejido}} = \delta_{\text{dieta}} + \Delta_{\text{dt}}$ (84-85), se intentó corroborar que el $\delta^{13}\text{C}$ del inicio y final de la barba (δ_{tejido}) reflejó la dieta de ballena gris consumida en invierno en Bahía Magdalena, y los valores del valle reflejaron la dieta asimilada durante el verano en Alaska (Figura 2). Para este intento, fue usado en la ecuación anterior el mismo factor de enriquecimiento trófico (Δ_{dt}) de la dermis y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de la barba (δ_{tejido}). El valor de Δ_{dt} fue previamente

calculado con los valores de la dermis (es decir, el tejido recientemente formado de la piel) y el valor de la dieta de Alaska y Bahía Magdalena (δ_{dieta}). Para ello, se asumió que los tejidos de la barba y de la dermis de ballena gris presentan un similar fraccionamiento isotópico de carbono, dado que se ha corroborado en focas que dos tipos de tejidos queratinosos de un animal presentan un similar Δ_{dt} (86). Por tanto, es de esperarse que los valores obtenidos de la medición directa en la fauna bentónica (Bahía Magdalena y Alaska) sean similares a aquellos valores inferidos por la ecuación.

Resultados

Observaciones en campo

Las actividades de alimentación de la ballena gris en el fondo como lo describió Walker (37-38) fueron detectadas en Bahía Magdalena sobre pastos marinos (*Zostera marina*). Los datos de ballena gris de campo fueron basados sobre 23 avistamientos hechos durante el 1 de febrero, el 18 de marzo y el 4 de abril, de los cuales 22 correspondieron a actividad alimenticia. Las observaciones debajo del agua y el registro fotográfico muestran ballenas grises que presentaron la conducta alimenticia general y patrones de movimiento como aquellos descritos por Walker en 1971 y 1975 (Figura 5, fotografías de la 5-6).

La fotografía subacuática adicionó mayor soporte a la actividad de succionar el fondo de la ballena gris como un patrón normal de alimentación. A pesar de la visibilidad reducida debajo del agua (2 o 3 m), fue claramente retratada una conducta alimenticia en las fotografías de 1-3. Estas imágenes debajo del agua revelaron que estos cetáceos comen usando el lado derecho de su boca como puede ser observado en el ángulo inferior derecho de la fotografía 1 (posición 1). Sobre el fondo, la ballena en posición 1 (fotografía 1) se movía hacia delante con ligeros movimientos de su aleta caudal, succionado el fondo y filtrando la fauna bentónica del sedimento. Las fotografías 2-3 mostraron sedimento saliendo de la boca enfrente de la aleta izquierda.

También se pudo observar que la actividad alimenticia es interrumpida momentáneamente al subir a la superficie para filtrar, deglutir y respirar. Ballenas grises alimentándose de manera solitaria o grupos hasta de 6 ballenas fueron observadas en el mismo sitio durante largos periodos, buceando lapsos de entre 10 y 15 minutos. A menudo se observó que algunas ballenas levantaban su cabeza hacia atrás sobre la superficie para tragar, causando eso la expulsión del sedimento de sus bocas (fotografía 5). Ocasionalmente también tragaban antes de respirar en la superficie (Figura 5, fotografía 4).

Análisis de $\delta^{13}\text{C}$

Las dos barbas adyacentes mostraron un patrón consistente de $\delta^{13}\text{C}$ (ANOVA, $F_{4,964} = 0.2403$, $P > 0.05$) (Figura 3a). La variación observada en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del eje longitudinal (Figura 3b) indican una variación en la dieta durante el tiempo en que este tejido fue depositado. De la punta – el punto mas viejo – hasta los 8.8 cm de la placa bucal, fue detectado una disminución en ^{13}C (-16.4 a -17.9 ‰). De los 8.8 cm a 6.8 cm, el valor de $\delta^{13}\text{C}$ permaneció similar (-17.9 ‰). De este punto a la base, fue medido un enriquecimiento (de -17.9 a -16.6 ‰). Los valores $\delta^{13}\text{C}$ a través de la base de la placa bucal (es decir, el mas recientemente formado en invierno), fue claramente consistente. Ellos fluctuaron de -16.6 a -16.2 ‰ y tuvieron un promedio de -16.4 ± 0.1 ‰, $n = 5$ (promedio. \pm desviación estándar, $n =$ numero de réplicas). Las biopsias de la dermis mostraron un promedio similar (-16.5 ± 0.1 ‰), sus valores ($n = 7$) fluctuaron entre -16.4 y -16.7 (Tabla 1).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las presas de ballena gris de Bahía Magdalena después de haber juntado las muestras para promediar la variación local fue de -18.4 ‰. La replicabilidad para el procedimiento completo fue ± 0.2 ‰. La mayoría de las presas fueron anfípodos identificados como *Erichthonius brasiliensis*, una pequeña fracción correspondió a otro tipo de anfípodos e isópodos.

Los resultados isotópicos calculados con la ecuación de DeNiro y Epstein para los valores de presas de Bahía Magdalena y de la dermis (Tabla 1) mostraron un enriquecimiento de la dieta a partir de las presas de Bahía Magdalena, correspondientes a $1.9 \pm 0.1 \text{ ‰}$, $n = 7$ (promedio \pm desviación estándar, n = numero de réplicas), considerando los datos previamente publicados para las presas de Alaska, se encontró un enriquecimiento de $3 \pm 0.1 \text{ ‰}$, $n = 7$, sugiriendo que las ballenas grises efectivamente se alimentaron sobre presas de Bahía Magdalena.

Tabla 1 Relación de isótopos estables de carbono de tejido queratinoso (dermis y barba) de ballena gris (*Eschrichtius robustus*), y sus correspondientes valores de fraccionamiento isotópico dieta-tejido (Δ_{dt}) para ^{13}C .

Muestra de Tejido	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Δ_{dt} fraccionamiento isotópico ^{13}C Bahía Magdalena dieta (-18.43 ‰)	Δ_{dt} fraccionamiento isotópico ^{13}C Bering dieta (-19.9 ‰)*
Dermis 1	-16.41	2.02	3.49
Dermis 2	-16.58	1.85	3.32
Dermis 3	-16.48	1.95	3.42
Dermis 4	-16.51	1.92	3.39
Dermis 5	-16.35	2.08	3.55
Dermis 6	-16.44	1.99	3.46
Dermis 7	-16.71	1.72	3.19
Promedio	-16.46	1.97	3.44
DS	0.11	0.11	0.11
Rango	0.30		

Muestra de Tejido	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta_{dieta}^{13}\text{C}$ si $\Delta_{dt} = 1.97$ (‰)	$\delta_{dieta}^{13}\text{C}$ si $\Delta_{dt} = 3.44$ (‰)
Barba 1	-16.61	-18.58	-20.12
Barba 2	-17.03	-19.00	-20.54
Barba 3	-17.23	-19.20	-20.74
Barba 4	-17.59	-19.56	-21.10
Barba 5	-17.90	-19.87	-21.41
Barba 6	-17.92	-19.89	-21.43
Barba 7	-17.55	-19.52	-21.06
Barba 8	-17.11	-19.08	-20.62
Barba 9	-16.66	-18.63	-20.17
Barba 10	-16.43	-18.40	-19.94
Promedio	-17.20	-19.17	-20.71
DS	0.53		
Rango	1.49		

* (Schell et al. (90))

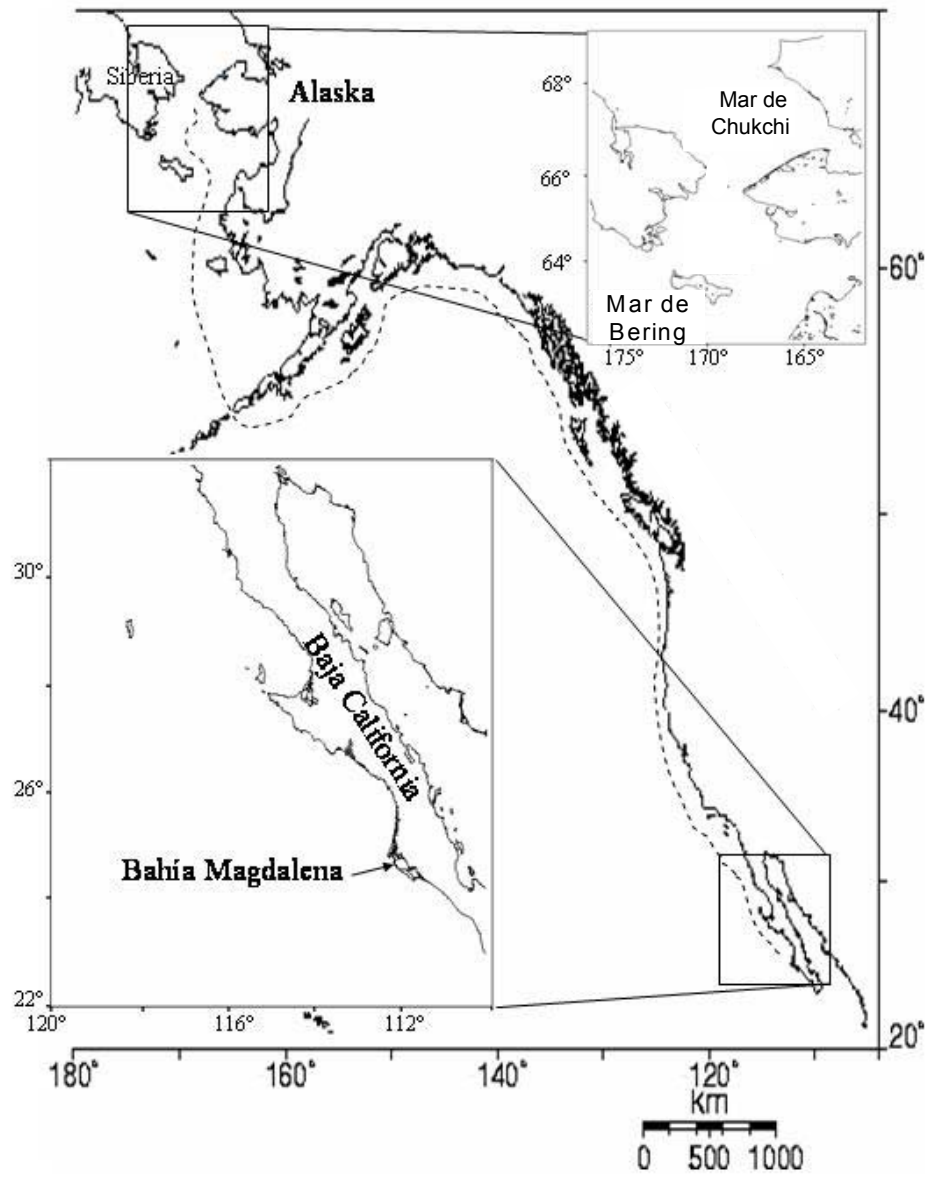


Figura 3. Ruta migratoria de la ballena gris (*Eschrichtius robustus*) desde sus áreas de alimentación de verano en los mares de Bering y Chukchi, hasta la laguna más sureña de reproducción (Bahía Magdalena) in Baja California Sur, México.

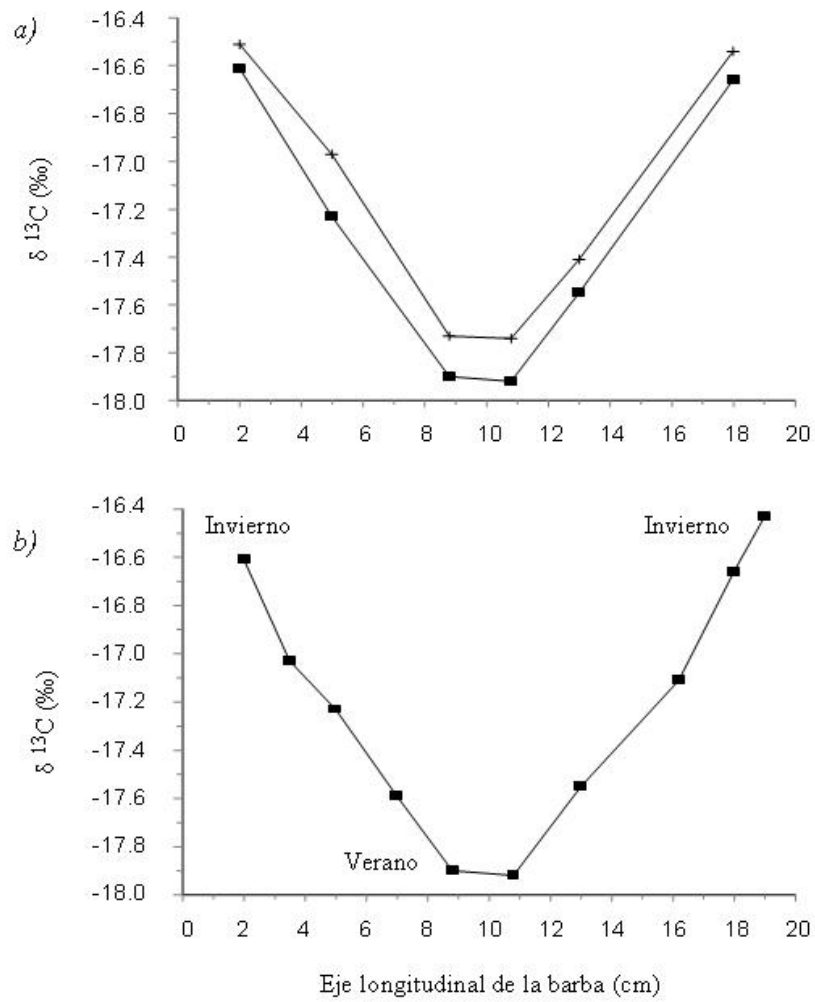


Figura 4. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo de la barba de una ballena gris (*Eschrichtius robustus*): (a) variación isotópica de carbono a lo largo de la longitud de dos barbas contiguas y (b) variación isotópica de carbono a lo largo de la longitud de una.

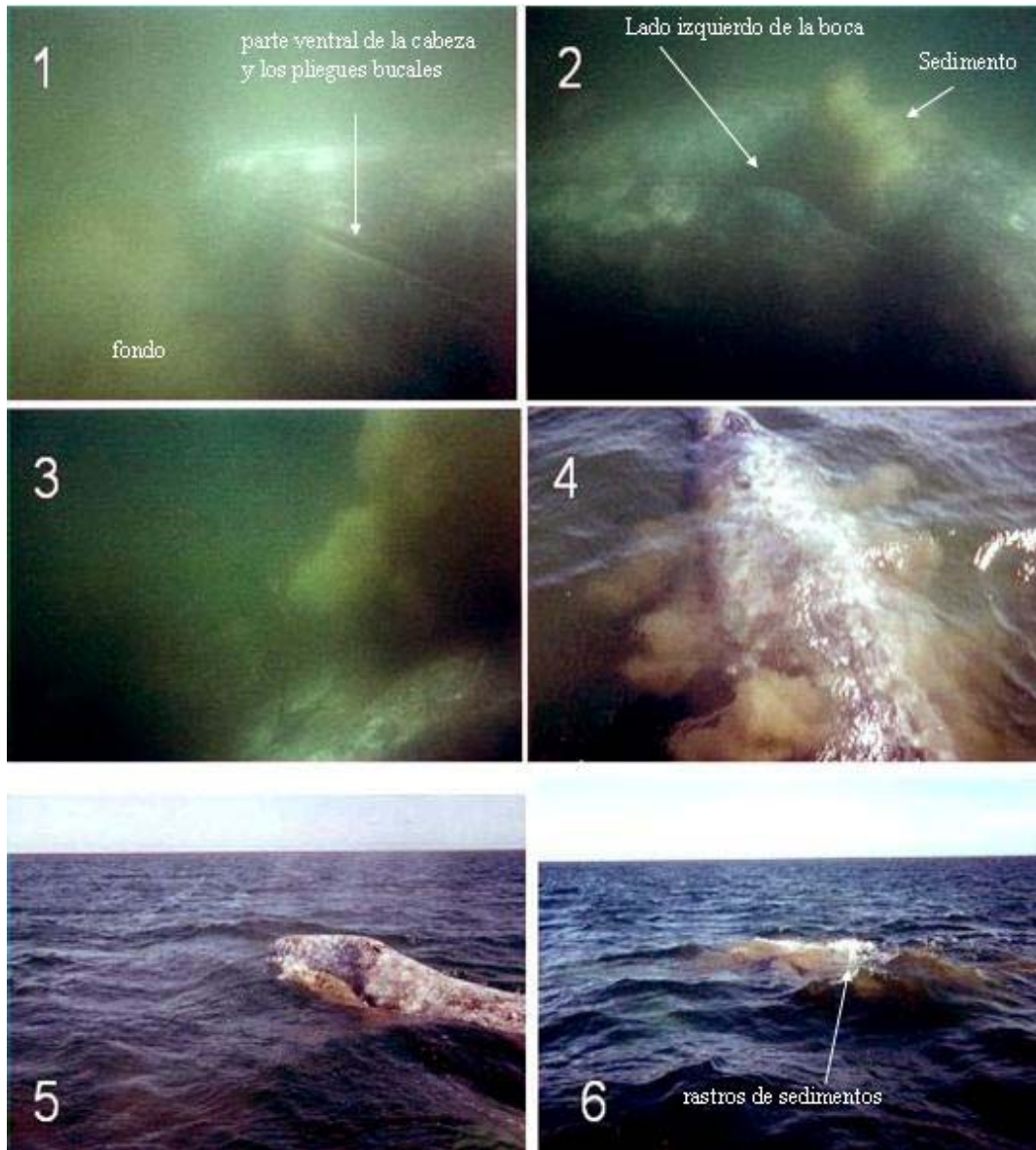


Figura 5. Fotografías de la actividad alimenticia de ballena gris en Bahía Magdalena, Baja California Sur, México, en invierno del 2000. Ballena alimentándose por succión a lo largo del fondo de esta laguna (1-3). Filtrando y deglutiendo la fauna bentónica (4). Sedimentos siendo expulsados de la boca durante la filtración (5). Huellas de sedimento suspendidas sobre la superficie causada por la alimentación de la ballena en el fondo (6).

Capítulo IV

Ecología alimenticia de la ballena gris inferida mediante análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno de sus barbas

Introducción

En el capítulo anterior se reportó la utilidad de la técnica de isótopos estables de carbono en los tejidos queratinosos de ballena gris (barbas y dermis) (87). Se encontró evidencia de alimentación en las áreas de crianza en las barbas de un ejemplar de año de edad. La cual se basó sobre el hecho de que las diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en la barba entre los periodos de verano e invierno, correspondieron a las diferencias isotópicas entre los valores de los anfipodos de verano (Alaska) y los detectados como fuente de carbono en las áreas de crianza de invierno. Lo anterior enfatiza la necesidad de una nueva aproximación isotópica en las barbas de un mayor número de ejemplares usando paralelamente mediciones de $\delta^{15}\text{N}$ adicionales a los de $\delta^{13}\text{C}$.

En éste capítulo se presentan los resultados del análisis isotópico de seis barbas de ballena gris. De las cuales se asumió, que un similar y repetible patrón estacional en los valores isotópicos a aquellos observados en el ejemplar de un año (87), podrían proporcionar evidencia adicional para la alimentación durante el verano en ésta especie considerando que la mayoría de las ballenas siguen la misma ruta migratoria (25).

Materiales y métodos

Trabajo de campo.

Se colectaron seis barbas de seis ejemplares de ballena gris encontrados varados sobre las costas de las lagunas de reproducción. Dos de ellas se colectaron en la Laguna Ojo de Liebre y cuatro en complejo lagunar Bahía Magdalena-Almejas. Una de ellas (GW00) fue la misma barba del ejemplar de un año analizada previamente en el capítulo

anterior mediante isótopos estables de carbono, encontrada en Punta Patos, Bahía Magdalena (75). En Bahía Magdalena-Almejas se colectó la barba más pequeña (GW51), de un individuo juvenil (~ 8 m), y la barba de un adulto GW31. Ambas fueron donadas por la escuela para estudios de campos en Puerto San Carlos. La barba GW32 fue de un adulto de longitud desconocida donada por habitante de la Isla Magdalena. Las últimas dos barbas (GW11 y GW12) fueron colectadas de dos ballenas (adultos, > 9.5m) encontradas muertas en Los Arenales, Laguna Ojo de Liebre. Todas las barbas colectadas fueron las más grandes disponibles de cada serie, excepto la GW51 que se desconoce su ubicación dentro de la serie.

Trabajo de Laboratorio

Después del muestreo, las barbas fueron lavadas en su superficie para eliminar grasa o material adherido de la encía, usando una espátula filosa de acero inoxidable previamente lavada con una solución de HCl (30%), y una solución de cloroformo:metanol (2:1).

Para el análisis de isótopos las barbas fueron muestreadas a distintos intervalos a lo largo del eje medio longitudinal de la barba, desde la base de la barba hasta la base de las cerdas terminales de la punta, usando una herramienta de acero inoxidable para grabar metales.

Las barbas fueron analizadas a diferentes intervalos con la intención de explorar la variación en las tendencias isotópicas, considerando posibles efectos por las diferencias en las tasas de desgaste y de crecimiento en las barbas. Ello, debido a que se ha reportado en barbas de ballena gris que las placas de la parte posterior crecen más rápido que las anteriores (88), y que la posición exacta dentro de sus correspondientes series en algunas de las barbas colectadas se desconoció.

Para la placa GW00, una ballena de un año de edad, fue muestreada a intervalos de 1.1 cm aproximadamente (17 valores), con la intención de incluir 7 mediciones más en el conjunto de datos e investigar si un conjunto de datos mayor modifica la tendencia detectada en el capítulo anterior (87). La otra barba de un ejemplar juvenil (GW51), de la cual se desconoció su posición exacta dentro de su serie correspondiente, se muestreó a intervalos de 0.6 cm (30 valores), con la intención de obtener el mayor número de mediciones posibles a lo largo de sus eje longitudinal y la tendencia real de la serie. Las barbas de los adultos (GW11, GW12, GW31 y GW32), fueron analizadas a dos diferentes medidas de intervalo. Las barbas GW11 y GW12 se muestrearon a intervalos de ~0.8 cm (29 y 28 valores, respectivamente), y las otras dos (GW31 y GW32) a intervalos de ~0.5 cm (54 y 61 valores, respectivamente).

Submuestras de barba pulverizada de 1 mg fueron pesadas y colocadas en pequeños contenedores de estaño y sometidos a combustión en un analizador elemental Robo-Prep™ a 1,800°C del laboratorio de Ciencia del suelo de la Universidad de Saskatchewan, Canadá. Los gases resultantes fueron separados y analizados en un espectrómetro de masas de relación de isótopos de flujo-continuo Europa™ 20:20 para abundancias de isótopos estables (CFIRMS). El CFIRMS envuelve el automatizado medidor secuencial de muestras (desconocidas) junto con el material de referencia. Fueron usados dos estándares de laboratorio (albúmina de huevo) para cada cinco muestras desconocidas en secuencia. La relación de isótopos estables fue expresada en notación- δ relativa a sus estándares respectivos, VPDB ($\delta^{13}\text{C}$) y aire ($\delta^{15}\text{N}$). Sobre la base de algunas cientos de replicas de estándares internos del laboratorio, fue estimado el error de medición del laboratorio, el cual fue $\pm 0.3\text{‰}$ y $\pm 0.1\text{‰}$ para los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, respectivamente.

Resultados

Las figuras 6 y 7 muestran los patrones de los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en todas las barbas respectivamente. Se consideraron diferentes puntos a lo largo de las barbas: A representa a los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ medidos del punto más viejo de cada una de las placas, B al valor más bajo de $\delta^{15}\text{N}$ encontrado a lo largo del eje longitudinal de cada barba (Figura 7) y sus valores respectivos de $\delta^{13}\text{C}$ en la Figura 6; C, es el valor de $\delta^{15}\text{N}$ medido sobre la base de cada barba, es decir el tejido recientemente formado (Figura 7) y sus valores de $\delta^{13}\text{C}$ en la Figura 6; b, es el valor de $\delta^{15}\text{N}$ que probablemente representó el tiempo del destete en GW00 (Figura 7) y su valor de $\delta^{13}\text{C}$ (Figura 6).

Todos los individuos mostraron fluctuaciones en los valores de ambos isótopos a lo largo de la longitud de las barbas. La GW00 y GW31 correspondieron a dos ballenas que mostraron una tendencia similar en sus variaciones isotópicas a lo largo de la placa para ambos isótopo. Sin embargo, las otras cuatro ballenas mostraron distintas tendencias individuales entre las oscilaciones en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, las cuales fueron bastante variables entre ballenas.

En la mayoría de las barbas (excepto GW00) los valores de $\delta^{13}\text{C}$ mostraron un patrón irregular. La placa GW31, en particular, mostró un estrecho rango $\delta^{13}\text{C}$ y tuvo la variación isotópica entre valores (-16.6 ± 0.2 ‰). El rango global de valores de $\delta^{13}\text{C}$ variaron 1.1 ‰ (GW11 y GW12) a 2.3 ‰ (GW32). Promediando el registro de valores de $\delta^{13}\text{C}$ en todas las seis barbas, 94 % de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ fluctuaron entre -14.7 a -17.0‰ (promedio de -16.1 ± 0.6 (DS) ‰, $n=200$). Únicamente el 6 % de los valores $\delta^{13}\text{C}$ fueron menores a -17.0 ‰ (promedio -17.7 ± 0.5 ‰, $n=13$).

En contraste a los valores de $\delta^{13}\text{C}$, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ fueron similares entre los individuos. La barba GW51 no mostró un patrón regular, en contraste a la GW00

mostró una oscilación regular. La amplitud de la oscilación de $\delta^{15}\text{N}$ entre ballenas varió de 1.6 ‰ (GW11) a 2.6 ‰ (GW32 y GW31).

La variación isotópica global entre registros para todas las ballenas se muestran en la tabla 2. Se observó una diferencia significativa en la variación isotópica global entre registros de $\delta^{13}\text{C}$ (ANOVA, $F_{5,208} = 33.18$, $p < 0.0001$); La prueba Tukey denotó una diferencia significativa ($p < 0.05$) para todas las comparaciones excepto entre la GW11 vs GW12 y GW11 vs GW32 ($p > 0.05$). De igual manera, se observó una diferencia significativa en la variación isotópica global entre registros de $\delta^{15}\text{N}$ (ANOVA, $F_{5,208} = 46.64$, $p < 0.0001$); La prueba Tukey denotó diferencias significativas ($p < 0.05$) para todas las comparaciones excepto entre GW00 vs GW51, GW11 vs GW32 y GW12 vs GW31 ($p > 0.05$).

Tabla 2 Valores promedio (\pm SD) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ para todas las mediciones a lo largo del eje longitudinal de las barbas de ballena gris y sus correspondiente amplitud en el rango de su fluctuación.

Ballena	n	Promedio $\delta^{15}\text{N}$ (‰)				Promedio $\delta^{13}\text{C}$ (‰)					
		Amplitud (‰)	Range	Amplitud (‰)	Range	Amplitud (‰)	Range	Amplitud (‰)	Range		
GW 00	17	15.0 \pm 0.6	1.9	13.9	to	15.7	-17.0 \pm 0.5	1.3	-17.7	To	-16.4
GW 11	29	13.7 \pm 0.5	1.6	12.8	to	14.4	-16.0 \pm 0.3	1.3	-16.8	To	-15.5
GW 12	28	13.0 \pm 0.8	2.7	11.3	to	14.0	-16.3 \pm 0.3	1.1	-17.0	To	-15.9
GW 31	54	13.3 \pm 0.6	2.6	12.0	to	14.6	-16.6 \pm 0.2	1.1	-17.3	To	-16.2
GW 32	58	14.1 \pm 0.7	2.6	12.6	to	15.2	-16.0 \pm 0.7	2.3	-17.1	To	-14.7
GW 51	28	15.2 \pm 0.4	1.6	14.4	to	16.0	-15.6 \pm 0.4	1.4	-16.5	To	-15.1

Con la intención de investigar porque en cinco de las ballenas analizadas (GW00, GW11, GW12, GW31 y GW32) los valores de $\delta^{15}\text{N}$ presentaron su menor valor (punto B) entre los 10 y 20 cm de la longitud de las barbas (Figura 4). Primero fue investigada la tasa de crecimiento de la barba GW00, por que ha sido reportado para una rehabilitada cría de ballena gris que las barbas crecen rápidamente hasta casi la longitud de adulto durante los primeros 6-7 meses (88). Por tanto, se intentó inferir la tasa de

crecimiento de la barba GW00. Debido a que las crías son destetadas normalmente en Agosto (89), se asumió que el movimiento hacia el sur en la ballena GW00 inició en Septiembre, y conociendo la fecha de muerte (mediados de Febrero), es posible inferir que 20 ± 2 semanas pasaron entre la formación del punto B y C (es decir 124 mm), por tanto la tasa de crecimiento de la barba en los últimos cinco meses fue de 5.9 mm/semana.

Asumiendo que la tasa de crecimiento de la barba entre el punto B y C fue la misma para los adultos de ballena gris como lo fue para la GW00, fue posible ingerir la estación correspondiente cuando se formo la mas grande disminución de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en las barbas (Tabla 3). Para todas las ballenas analizadas los registros de isotópicos de sus barbas registraron al rededor de un año de información (12.7 ± 1.6 meses; promedio \pm desviación estándar), y fue posible asumir que el punto B en todos los individuos se formo en otoño.

Tabla 3 Estimación del tiempo implicado entre el punto A - B y B - C representados en las Figuras 3 y 4, derivados de la tasa de crecimiento de la barba GW00 (5.9 mm/seman) de ballena gris (*Eschrichtius robustus*) y el correspondiente tiempo de formación del punto B.

Ballena	Epoca de colecta	Laguna	Tiempo entre A - B (mes)	Tiempo entre B - C (mes)	Tiempo total registrado en la barba (mes)	Mes inferido para la Formacion del punto B (mes)
G W 00	14-17Marzo	Magdalena	7	5	12	OCT
G W 11	~ 15 Abril	Ojo de Liebre	5.9	6.3	12.2	OCT
G W 12	~ 15 Abril	Ojo de Liebre	3.8	6.9	10.7	SEP
G W 31	Ene – Mar	Magdalena	9.1	5.5	14.6	SEP - NOV
G W 32	~15 Abril	Magdalena	7.4	7	14.4	SEP

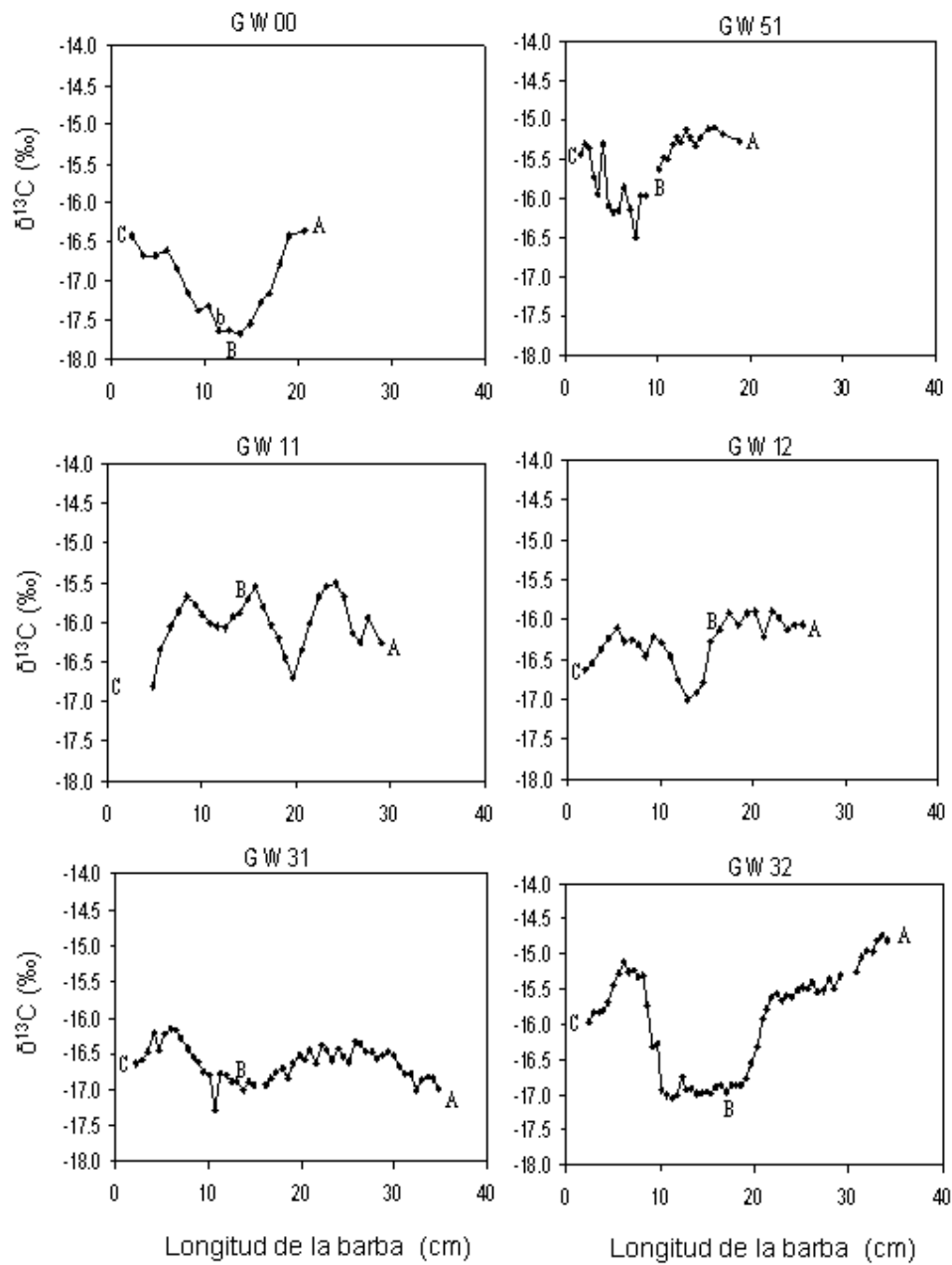
Similarmente, se asumió que el promedio del valor de $\delta^{13}\text{C}$ de los anfípodos que son presas de la ballena gris en Alaska es -19.9‰ (90), y conociendo en la barba el valor de $\delta^{13}\text{C}$ del punto B de GW00, el cual corresponde a este punto de sus dieta (87), se puede inferir el factor de enriquecimiento trófico (Δ_{dt}) entre la dieta y el tejido del

consumidor de acuerdo la ecuación siguiente $\delta_{\text{tejido}} = \delta_{\text{dieta}} + \Delta_{\text{dt}}$ (72-73), cuyo valor resultó ser de 2.25 ‰ (Tabla 4). Por tanto, si el Δ_{dt} en el punto B ha sido (para GW00) el mismo como para todos los puntos a lo largo del eje o (para los adultos), y conociendo para todos los animales el valor de $\delta^{13}\text{C}$ para cada punto B o C, es posible calcular los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de la fuente de carbono que originó el tejido queratinoso sobre ambos puntos de cada barba (Tabla 4).

Table 4 Valores de isótopos estables de carbono ($\delta_{\text{dieta}}^{13}\text{C}$) de la dieta de ballena gris (*Eschrichtius robustus*) derivados del factor de enriquecimiento relativo al valor de $\delta_{\text{barba tejido}}^{13}\text{C}$ detectado sobre el punto B y C señalados en las Figuras 3 y 4.

Ballena	$\delta_{\text{barba tejido}}^{13}\text{C}$ del punto B (‰)	$\delta_{\text{dieta}}^{13}\text{C}$ (‰)
G W 00	-17.65	-19.9*
	$\delta_{\text{barba tejido}}^{13}\text{C}$ on B point	asumiendo $\Delta_{\text{dt}} = 2.25$ ‰
G W 11	-15.70	-17.95
G W 12	-16.13	-18.38
G W 31	-16.90	-19.15
G W 32	-16.86	-19.11
G W 51	-15.62	-17.87
Ballena	$\delta_{\text{barba tejido}}^{13}\text{C}$ on C point	asumiendo $\Delta_{\text{dt}} = 2.25$ ‰
G W 00	-16.43	-18.68
G W 11	-16.82	-19.07
G W 12	-16.62	-18.87
G W 31	-16.64	-18.89
G W 32	-15.92	-18.17
G W 51	-15.45	-17.70

* Schell et al. (90)



7

Figura 6. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo del eje longitudinal de las barbas de ballena gris (*Eschrichtius robustus*).

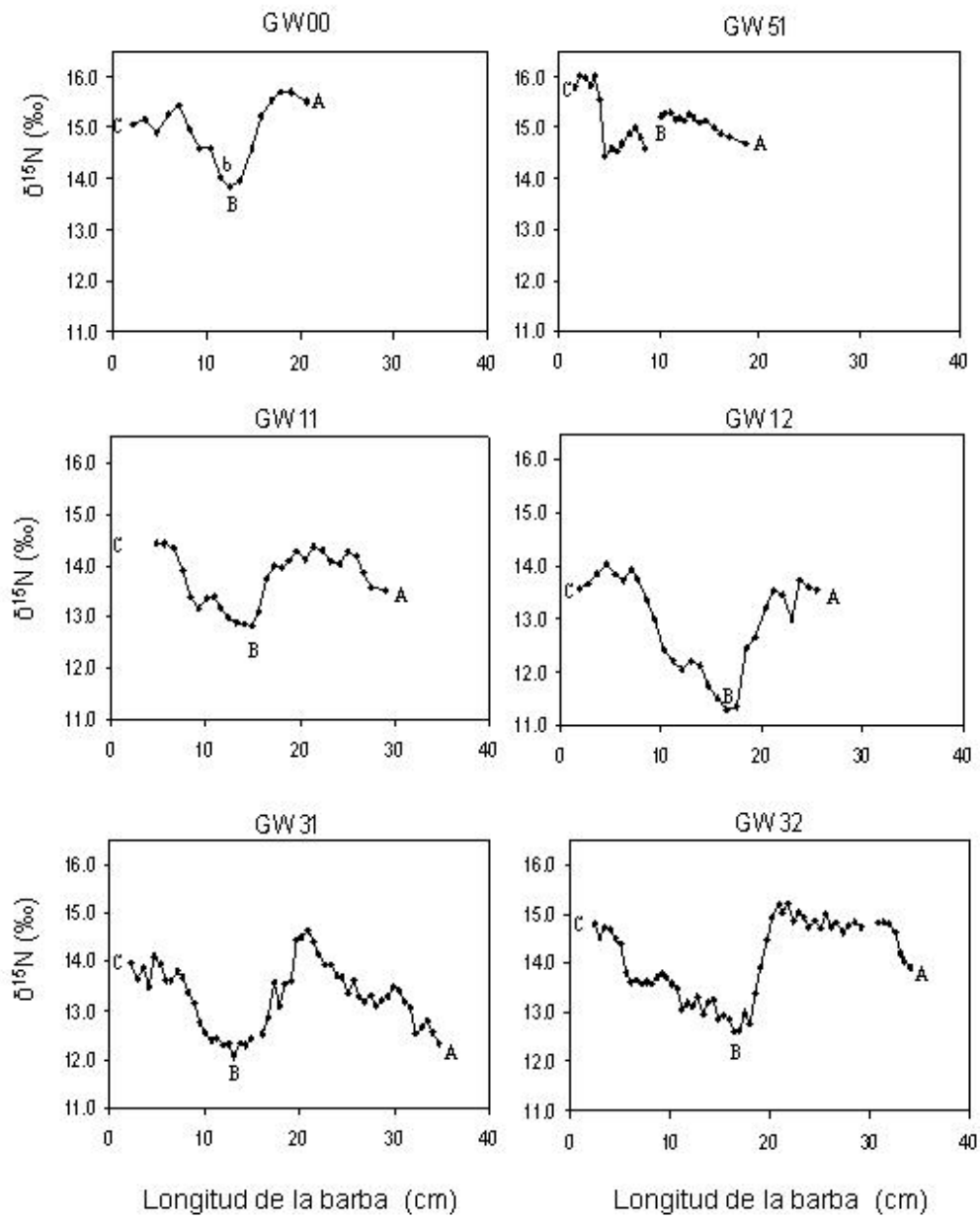


Figure 7. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ a lo largo del eje longitudinal de las barbas de ballena gris (*Eschrichtius robustus*).

Capítulo V

Conexión eco-fisiológica entre los LC-PUFA y el incremento anual de ballenas grises

Introducción

La teoría actual de ácidos grasos sostiene que la acción de los eicosanoides en el cuerpo de mamíferos y peces está regulada por la dinámica interna de la relación entre ARA y EPA. Por ejemplo, en peces se ha comprobado que altas relaciones de ARA:EPA en los tejidos resultan una mayor acción de los eicosanoides y altas relaciones de EPA:ARA tienden a disminuir su acción (16). Por tanto, el requerimiento óptimo en los tejidos para cualquiera de los LC-PUFA no puede ser manejado o interpretado de manera aislada, debido a que ni uno ni otro es más importante para los requerimientos óptimos de la dieta de LC-PUFA. Más bien, las proporciones relativas entre los LC-PUFA (DHA:EPA:ARA) deben ser definidos, independientemente que se estén analizando a nivel de un tejido específico o a nivel de todo el cuerpo (16).

En este capítulo se analizó el contenido de LC-PUFA en los ácidos grasos totales existentes en la capa de grasa y la dermis de ballenas grises madres, colectadas de la laguna más sureña de reproducción. Así como de la fauna detectada como fuente de alimento de ballena gris en diferentes puntos latitudinales en su ruta migratoria. Se sugiere que los distintos contenidos de LC-PUFA en los ácidos grasos totales entre las presas de la parte norte y sur de su migración se relacionan con el nacimiento y sobrevivencia anual de ballenas grises. Esta hipótesis se basa en dos factores: a) la transferencia conservativa de los llamados ácidos grasos marcadores (que emerge solo o principalmente de la dieta) dentro los lípidos neutros a través de los niveles tróficos (91), y b), que la capa de grasa es la principal fuente de reservas energéticas usada para requerimientos durante periodos de ejercicio intenso o de inadecuado consumo.

Materiales y Métodos

Trabajo de campo

Durante la época de ballenas grises en el año 2000, fueron colectadas en cuatro áreas de reciente actividad alimenticia, muestras de anfipodos bentónicos con una draga Ekman (0.02 m²). Estas muestras fueron lavadas con agua de mar a través de una malla de 0.5 mm. Durante la transportación las muestras fueron mantenidas en hielo y posteriormente congeladas en el laboratorio (-20 °C).

Durante la migración hacia el norte de ballenas grises en el 2002, presas bentónicas de ballena gris fueron tomadas en tres diferentes latitudes (Bahía San Quintín, Isla Vancouver y el Mar de Bering) a lo largo del corredor migratorio, usando una draga Wildco (0.02 m²) o van Veen (0.1 m²), dependiendo de las condiciones del clima. Las localidades de muestreo fueron ubicadas en áreas con actividad alimenticia de ballena gris o en zonas conocidas donde se ha observado a la ballena gris alimentarse. De igual forma durante la transportación las muestras fueron mantenidas en hielo y posteriormente congeladas en el laboratorio (-20 °C).

En Bahía San Quintín, Baja California, México, no obstante que no se observó actividad alimenticia de ballena gris, se colectaron muestras de 10 localidades. En la Isla Vancouver, Canadá, fue posible detectar actividad alimenticia de éstas ballenas sobre presas bentónicas (anfipodos) y planctónicas (mysidáceos), por lo que se colectaron cinco muestras de cada tipo de presa en cinco localidades diferentes. En el Mar de Bering se seleccionaron al azar 12 réplicas de anfipodos de una red de 60 estaciones del Crucero Alpha-Helix (Septiembre 2002) de la Universidad de Alaska (Fairbanks), dirigido a estudiar las poblaciones de anfipodos bentónicos del Mar de Bering y Chukchi, en las zonas de mayor alimentación de ballena gris. Los organismos

fueron transportados en hielo después de lavarlos con agua marina a través de una malla de 0.5 mm y congelados en el laboratorio (-20°C).

En la misma temporada del 2002 se colectaron biopsias de piel y grasa de 11 ballenas grises madres en Bahía Magdalena. Las muestras de tejido fueron tomadas con una ballesta y un dardo con punta hueca para biopsia de acero inoxidable (2.5 cm largo y 0.6 cm de diámetro), previamente esterilizada con fuego. Cada una de ellas fue colocada en viales plásticos estériles e inmediatamente almacenadas en nitrógeno líquido.

Trabajo de Laboratorio

Las muestras bentónicas de Bahía Magdalena fueron reunidas para homogenizar la variación local (peso y tamaños de las especies de anfípodos), y después fueron liofilizadas, pulverizadas en un mortero de ágata y separadas en tres replicas antes de la extracción de lípidos. Las muestras bentónicas de las otras latitudes también fueron liofilizadas, pulverizadas para homogenizar el contenido de lípidos. Entonces de cada una de ellas se extrajo una submuestra de ~10 mg para analizar los contenidos de LC-PUFA.

En el punto próximo a la capa de grasa de cada una de las biopsias de piel, nuevamente pequeñas submuestras de la dermis fueron tomadas. Cada muestra de dermis y grasa (de ~10 y ~5 mg respectivamente) fue homogenizada (en un homogenizador de tejido marca Wheaton) con 2 mililitros de una solución de cloroformo-metanol a una proporción de 2:1 respectivamente (reactivo de Folch), y filtrada después de 15-20 minutos usando filtros GF/C de fibra de vidrio.

El contenido total de lípidos en las muestras bentónicas se extrajo de acuerdo al método de Bligh y Dyer (92) y en las biopsias con el de Folch (93). Después de la metilación (94) los ácidos grasos totales fueron analizados con un cromatógrafo de

gases (HP G 1800 B) unido a un inyector-vaporizador con temperatura programable, una columna capilar silica Omega-wax 250 (Supelco), y un detector de ionización de masas. Los ácidos grasos fueron identificados por medio de la comparación de espectros de masas obtenidos de los registros de los archivos del National Institute of Standards and Technology; así como también por los tiempos de retención de varios estándares comerciales. Los valores se expresaron como μg de ester de metilo de ácidos grasos totales (FAME) por mg de peso seco de muestra.

Resultados

Los resultados revelaron que de los LC-PUFA el ácido más abundante tanto en la capa de grasa como en la dermis (Figura 8) fue el EPA (1.58 y $0.62 \mu\text{g FAME} \cdot \text{mg peso seco}^{-1}$, respectivamente). En la dermis fue detectada concentraciones similares de ARA y DHA entre ballenas.

En la Figura 9 se muestran los contenidos de ARA, EPA, y DHA (ácidos grasos totales) de la fauna identificada como alimento para ballenas grises en las diferentes latitudes. Se puede observar que las concentraciones de EPA en las distintas presas de la ballena gris, están relacionadas con la latitud. La fauna de BS presentó el promedio más alto, y los de MB los más bajos. Sin embargo, las concentraciones de ARA de ambas latitudes (0.30 y $0.29 \mu\text{g FAME} \cdot \text{mg peso seco}^{-1}$, respectivamente) y DHA (2.8 y $2.5 \mu\text{g FAME} \cdot \text{mg peso seco}^{-1}$, respectivamente) fueron semejantes.

En la Tabla 5 se hace una comparación entre los promedios de los contenidos de los tres LC-PUFA y el valor promedio de la relación EPA/ARA, tanto para las presas del Mar de Bering y Bahía Magdalena, como de las biopsias de dermis y grasa. La relación EPA/ARA entre la fauna de Bahía Magdalena y la capa de grasa tiene valores

muy semejantes, así como también los contenidos de ARA y DHA entre los anfípodos del mar de Bering y de Bahía Magdalena.

Tabla 5 Comparaciones de contenidos promedio de ARA, EPA y DHA ($\mu\text{g FAME} \cdot \text{mg peso seco}^{-1}$; promedio \pm desviación estándar) entre las presas (anfípodos) de ballena gris (*Eschrichtius robustus*) de las áreas de verano e invierno, y entre biopsias de la capa de grasa y la dermis de ballenas madres colectadas en Bahía Magdalena.

LC-PUFA	Bering (n=12)	B. Magdalena (n =3)	Dermis (n=12)	Grasa (n=10)
ARA	0.31 \pm 0.0	0.30 \pm 0.0	0.27 \pm 0.0	0.11 \pm 0.0
EPA	12.41 \pm 0.8	3.65 \pm 0.1	0.63 \pm 0.1	1.54 \pm 0.6
DHA	2.85 \pm 0.2	2.55 \pm 0.1	0.09 \pm 0.0	0.59 \pm 0.2
EPA/ARA	40.16 \pm 1.2	12.34 \pm 0.3	2.52 \pm 0.2	12.48 \pm 1.4
DHA/ARA	9.19 \pm 0.3	8.60 \pm 0.3	0.40 \pm 0.1	5.65 \pm 1.4

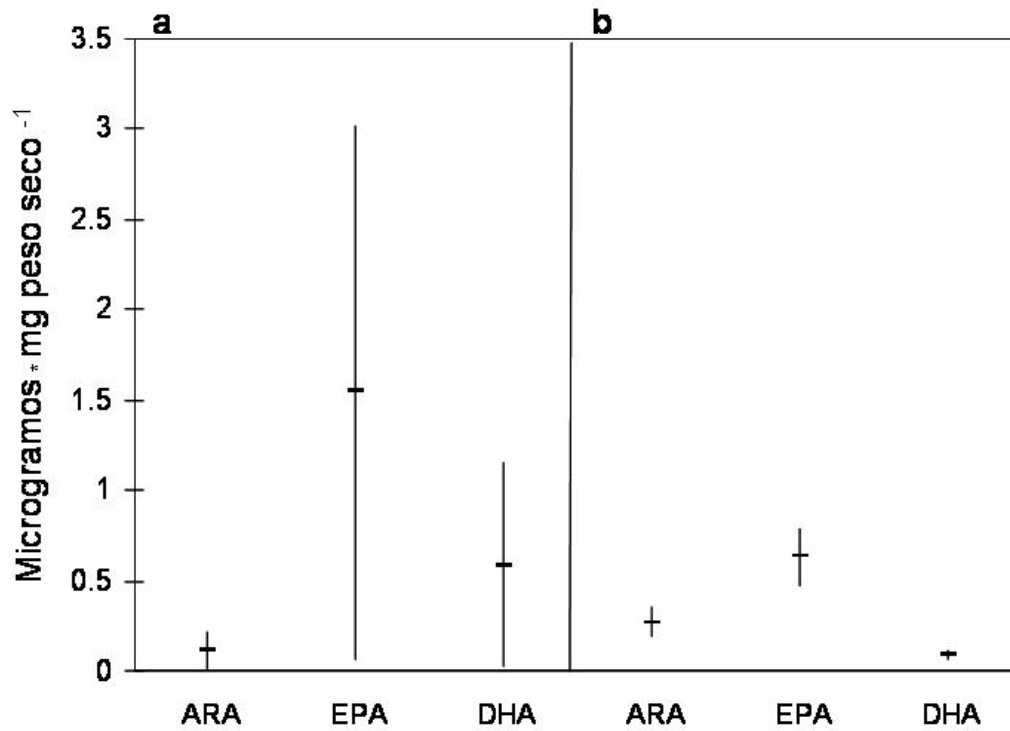


Figura 8. Contenidos promedios (\pm error estándar) de ARA, EPA, y DHA de biopsias de la capa de grasa y la dermis de madres de ballena gris (*Eschrichtius robustus*) colectadas en Bahía Magdalena. Barras verticales indican el error estándar, n=10 para la capa de grasa (a), n=11 para las dermis (b).

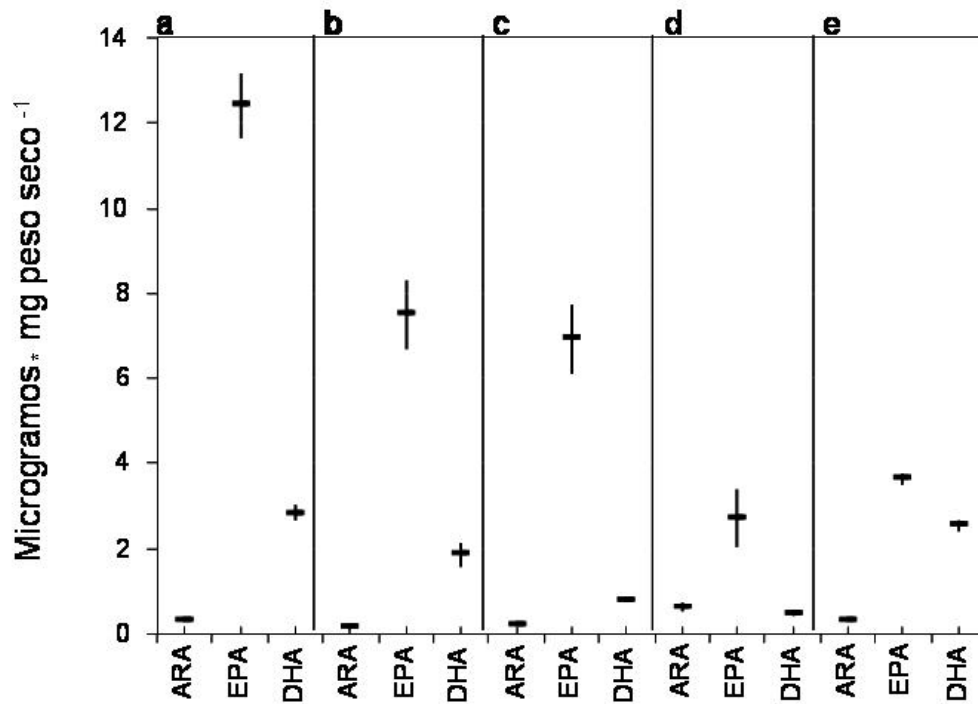


Figura 9. Contenido promedio del contenido de ARA, EPA, y DHA de las presas de ballena gris (*Eschrichtius robustus*). Las barras verticales indican el error estándar; n=12 para anfípodos del Mar de Bering (a), n=5 para los mysidáceos (b) y n=5 para anfípodos (c) de la Isla Vancouver, n=10 para anfípodos de Bahía San Quintín, Baja California (d), y n=3 para anfípodos de Bahía Magdalena, Baja California Sur (e).

Capítulo VI

Discusión e Integración

Actividad alimenticia de la ballena gris en las lagunas de reproducción

En 1971, Walker reto la vieja creencia que las ballenas grises ayunan cuando pasan el invierno en Baja California Sur. Casi 15 años mas tarde Swartz y Jones (95) en un estudio en La Laguna San Ignacio mencionaron, "...como el Dr. Walker, nosotros hemos atestiguado a ballenas grises hurgando a lo largo de los fondos de la laguna, pero que ellas estaban realmente alimentándose nosotros no lo podemos afirmar". Las observaciones en Bahía Magdalena, confirmaron que la conducta previamente descrita por el Doctor Walker es parte de una conducta alimenticia de ballena gris durante el invierno. Los registros fotográficos permitieron ilustrar tanto la succión y el filtrado de sedimentos hechos por estos cetáceos en el área de estudio, tal como se ha fotografiado en altas latitudes, como por ejemplo en la Isla Vancouver (95). Con los registros de este estudio de Bahía Magdalena mostraron una remarcable similitud en los patrones de conducta. En ambas localidades, estos grandes mamíferos descienden al fondo donde ellos extraen la fauna bentónica y la filtran a través de sus barbas.

Aunque no hay datos disponibles para estimar el recambio de carbón en ballenas, la parte de la barba nuevamente formada se presume que responde rápidamente a un cambio de alimentación (96). Si la ballena gris se alimenta en invierno como en verano como lo hace las ballenas bowhead (96), se podría esperar que el cambio de la composición isotópica a lo largo del eje longitudinal de las barbas podrían reflejar la magnitud y el cambio geográfico causado por la composición isotópica de sus presas. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtenidos de los anfípodos en Bahía Magdalena (-18.4 ‰) en el tercer capítulo y los de Alaska (-19.9 ‰) publicados por Shell et al., (90) permite sostener ésta afirmación. En este estudio el cambio en la composición isotópica a lo largo del eje longitudinal de la barba analizada en el tercer capítulo reflejaron las

diferencias entre los anfípodos consumidos de las localidades de verano e invierno (es decir 1.5 ‰).

Basándose en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de los anfípodos consumidos por las ballenas grises en Bahía Magdalena y Alaska, se puede asumir que la barba estudiada en el tercer capítulo reflejó un factor enriquecimiento trófico correlacionado a una fuente de carbono enriquecida de una área de crianza de Bahía Magdalena, Baja California Sur.

Las barbas de las ballenas grises son suficientemente cortas durante los primeros meses para permitir el consumo de leche. Entonces durante los siguiente 6 - 7 meses, las barbas crecen rápidamente hacia la longitud de los adultos (~38 cm, 97), lo cual coincide con el tiempo del destete justo cuando las madres y las crías llegan al mar de Bering y al mar Chukchi (25, 89). Por tanto, si las ballenas grises no comen mientras crían en las áreas de invierno (98-99); las barbas de todas las crías de un año de edad deberían solo reflejar el $\delta^{13}\text{C}$ de las presas de las localidades norteñas donde los tejidos de la madre fueron previamente formados. Primero la proporción de ^{13}C y ^{12}C podría ser tomada de la leche de la madre, proveniente de los depósitos de grasa que ella originó de las fuente de alimento en los mares de Bering y Chukchi, y más tarde del alimento que las crías consumen por ellos mismos en las áreas de verano del Ártico después de haber sido destetados, o de sus capas de grasa que también originaron en Alaska. Sin embargo, los análisis isotópicos no soportan un patrón como tal. Aunque no hay datos disponibles para estimar el recambio de carbón en la leche de ballenas, se ha encontrado que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de cabello rasurado sobre ganado vacuno responde rápidamente (<10 días) a cambios en la dieta (100). Más aun, se ha encontrado que la leche de vacas responde rápidamente, con un recambio estimado en tiempo para el precursor global de menos de un día, e intentándose equilibrar con la nueva dieta en aproximadamente en 4 días (101).

Es interesante notar que los valores del inicio y el final de la barba de la ballena juvenil analizada en los capítulos tercero y cuarto (GW00) son similares. Se sospecha

que los valores isotópicos de estos puntos dentro de la barba representan la composición isotópica de la dieta durante el nacimiento y los primeros meses de vida, y las últimas semanas antes de su muerte. Primero su madre transfirió grandes montos de lípidos de su capa de grasa (reservas generadas en Alaska) a través de la leche más el alimento extra obtenido de Bahía Magdalena. Posteriormente, cuando este individuo estuvo por sí mismo en Bahía Magdalena, éste probablemente usó grandes montos de lípidos de su capa de grasa generada en Alaska, adicionada con el alimento obtenido de esta laguna, donde murió con una longitud corporal de 8.5 m. En otros estudios de mamíferos marinos (como por ejemplo: leones marinos, 49), los recién nacidos reflejan el alto contenido de lípidos en la dieta materna la cual está disminuida en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ cuando se compara el valor de la dieta a un año de edad y en años subsecuentes. Se puede pensar que este evento se debe a la composición de las dietas que posiblemente difieren antes y después del destete. Considerando que ha sido sugerido en focas que la dieta de las hembras quizás difiere durante y posterior a la estación de crianza (102).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de la dermis analizada en el tercer capítulo mostraron una relación isotópica de carbono similar a los valores promediados para la piel de ballena gris colectadas en Laguna San Ignacio por Shell et al. (78), en las cuales el promedio de la relación de isótopos estables de carbono fue $-16.0 \pm 0.6 \text{ ‰}$, $n = 4$ (promedio \pm desviación estándar).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ para las presas obtenidas por la ecuación de DeNiro y Epstein's en el tercer capítulo permitieron obtener valores similares a los medidos de los anfípodos colectados en Bahía Magdalena y los publicados para el área de Alaska, lo cual parece soportar la afirmación que los valores de la base (inicio) y la punta (final) de la barba, registraron los valores de la fauna bentónica de Bahía Magdalena, mientras que los de la parte media (es decir, el valle del registro isotópico) reflejaron el de los anfípodos de Alaska.

El tercer capítulo mostró el valor de usar la técnica de isótopos estables de carbono en las barbas de ballena gris para estudiar cambios en la localidad de alimentación y en la dieta. Sugiere también que las ballenas grises se alimentan dentro del corredor migratorio. Al relacionar esta conclusión con la hipótesis original de la investigación global, los resultados de este capítulo apoyan la afirmación de que el nacimiento y sobrevivencia de las ballenas grises, se relaciona con una interacción entre la ballena gris y otras especies (*unidades*) de la comunidad de las lagunas de reproducción (es decir, con la dinámica interna de la comunidad), más que a partir de una fluctuación climática y un cambio oceanográfico físico del ambiente por separado. Sin embargo, también enfatiza la necesidad de investigar los patrones isotópicos de un mayor número de barbas, incluyendo muestras de individuos adultos, investigando la variación de los registros isotópicos a través de las distintas redes alimenticias del corredor migratorio de la ballena gris. Así como también, abordar la hipótesis mediante mediciones de $\delta^{15}\text{N}$.

Actividad alimenticia de la ballena gris a lo largo del corredor migratorio

Ha sido asumido a lo largo del eje longitudinal de las barbas de la mayoría de las ballenas analizadas en el cuarto capítulo una periodicidad isotópica en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ como se ha visto en otras ballenas de barbas (57 y 58). Sin embargo, fue encontrada una alta variabilidad en la composición isotópica entre individuos. Los registros de $\delta^{13}\text{C}$ sugirieron que solo un individuo reflejó la principal presa del Ártico asumida con un valor de $\delta^{13}\text{C}$ de -19.9 ‰. Fueron consideradas diferentes explicaciones para los resultados en el cuarto capítulo.

Nosotros asumimos que el enriquecimiento general en los valores $\delta^{15}\text{N}$ en las barbas GW00 y GW51 se debieron al hecho que en el registro isotópico de las barbas de esos animales incluyeron el periodo de lactancia antes del destete cuando la leche de la madre representó una fuente de alimento con un nivel trófico más alto. Este efecto ha sido detectado previamente en otros mamíferos marinos como los osos polares (103), en

las ballenas Bowhead del ártico (58) y en el león marino Steller (*Eumetopias jubata*; 47).

El registro $\delta^{15}\text{N}$ a lo largo de la barba GW00 corroboró la interpretación hecha con $\delta^{13}\text{C}$ (87) con la suposición que el registro entre el punto A y B representan efectivamente el periodo de lactancia. Comparando los registros de la GW00 y la GW51, es posible considerar que el primero presentó un periodo de lactancia normal porque los resultados isotópicos son consistentes con las conclusiones de otros trabajos, los cuales mencionan que el periodo de lactancia comienza en las lagunas de reproducción en México, continuando durante su migración hacia el norte, y terminando cuando las madres y las crías llegan a las áreas de alimentación entre el mar de Bering y Chukchi, justo donde ocurre el destete, aproximadamente 6 meses más tarde de su nacimiento (25).

Hobson et al. (104) demostró que el catabolismo de la masa muscular puede hacer que los valores $\delta^{15}\text{N}$ tiendan a elevarse en aves silvestres y de cautiverio debido a la sucesiva pérdida de ^{14}N durante el catabolismo y la aminación. Si esto ocurrió en la madre del GW51, es posible esperar un elevado enriquecimiento en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ cuando el tejido de las barbas de la GW51 fue precipitado, probablemente debido a que la madre estuvo bajo un intenso ayuno durante el periodo de lactancia. Otra posibilidad podría ser que la madre sólo cambió su dieta por una fuente más enriquecida, pero fue descartada esta posibilidad porque la barba en ese individuo fue muy delgada con respecto a la GW00. Esta característica fue consistente a lo largo del registro de la GW51 (entre los puntos B y C), es posible asumir que ello reflejó el periodo de nutrición seguido al destete, que probablemente también manifestó un periodo de ayuno cuando esta ballena intentó alimentarse por sí misma. Esta explicación concuerda con el registro de los valores $\delta^{13}\text{C}$ del mismo animal debido a que la presa principal de las ballenas grises cuando ocurre el destete (*Ampelisca macrocephala*) de las áreas de alimentación de Alaska no se detectó.

Es este estudio se asumió que en los primeros 6 a 7 meses de vida de la ballena GW00 fueron registrados entre los puntos A y B de los registros $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$. El punto B probablemente corresponde al tiempo del destete, debido a que en este punto el valor correspondió a la dieta equivalente al valor $\delta^{13}\text{C}$ de las presas de las ballenas gris de Alaska, lo cual es consistente con el trabajo de (25). También debido al hecho de que fue registrado un enriquecimiento en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre el punto B y b, cuando los valores de $\delta^{13}\text{C}$ permanecieron constantes. Los resultados del cuarto capítulo en GW00 mostraron una similar tasa de crecimiento en los últimos 5 meses (5.9 mm/semana), a la tasa calculada por Sumich (88) para la barba más grande de una serie de placas de una cría rehabilitada en cautiverio (6 mm/semanas).

Los resultados acerca del tiempo de formación del valor más bajo medido a lo largo de cada una de las barbas de los adultos, mostraron que para todos los individuos analizados, registraron sólo alrededor de un año de información. Esta conclusión corrobora la noción que las barbas de ballena grises están sujetas a una mayor abrasión y desgaste que otras ballenas de barbas, lo cual debe ser compensado por un continuo y rápido crecimiento a lo largo de la vida de una ballena gris (25), ello debido a que la ballena gris come principalmente presas bentónicas (26). Sin embargo, el tiempo registrado es más corto que el periodo mencionado por Rice y Wolman (25).

Los valores de nitrógeno están influenciados por procesos fisiológicos y de posición trófica, por lo que la interpretación es complicada (105). Sin embargo fue posible saber que el punto B (la más baja medición de los valores de $\delta^{15}\text{N}$) en las barbas de la mayoría de las ballenas (GW00, GW11, GW12, GW31 y GW32) fue formado en otoño.

En general para todos los individuos analizados en el cuarto capítulo, es posible asumir que el punto B de los registros isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ representa el momento en que todos los individuos inician anualmente “el periodo de ayuno”, lo cual es igual como en otros estudios de ballenas de barbas. Best y Schell (57) demostraron que el valor mas

bajo $\delta^{15}\text{N}$ a lo largo del eje de las barbas de *Eubalaena australis* son principalmente formados en otoño y asumen también que este patrón concuerda con el inicio del periodo de ayuno de estas ballenas (el punto en el cual los valores de $\delta^{15}\text{N}$ se espera que comiencen a incrementarse).

Para responder la pregunta ¿Por qué el punto B ocurrió en un tiempo particular durante el año (otoño)? Se investigó la conexión entre este evento y algunos procesos oceanográficos a lo largo del corredor migratorio de la ballena gris que ocurren también en esa estación.

La costa Oeste de Norte América (el corredor migratorio de la ballena gris) es afectada por diversos procesos oceanográficos físicos, los cuales en consecuencia influyen en la productividad primaria (106). El norte del mar de Bering es típicamente cubierto por hielo durante 5 o 6 meses cada año en el invierno oceanográfico (27). En las entradas del mar (fiords) y estuarios del Golfo de Alaska y la Costa de British Columbia a finales de verano y principios de otoño, la turbidez de las descargas de los ríos progresivamente limita la productividad primaria en las entradas superiores de los fiords (107). También, el inicio de la corriente de Davidson a lo largo de la Costa Oeste de Norte América ocurre usualmente en octubre, cuando el movimiento promedio global en el sistema de la corriente de California se dirige hacia al norte hasta marzo (108). Cuando el flujo hacia el norte de la corriente de Davidson permanece, las surgencias son abatidas. Un efecto común entre todos los eventos anteriores es la reducción de la productividad primaria, seguida por una disminución en las poblaciones de zooplancton (108). Como las ballenas grises comen principalmente anfípodos de la familia Ampellicidae (27, 36, 38, 109), los cuales son filtradores (110), es factible pensar que la producción de estas presas de la ballenas gris durante otoño e invierno podrían mostrar una considerable disminución a lo largo del corredor migratorio, lo cual posiblemente también sea la causa del fuerte cambio en la distribución de ballenas grises a lo largo de su ruta migratoria durante esta época. Además es posible considerar

durante esta época una extensiva búsqueda de alimento tanto en ambientes bentónicos como en pelágicos en la parte sur de su distribución. Han sido reportados a lo largo de la ruta migratoria que las ballenas grises se alimentan de presas como mysidáceos, camarones (35, 111 y 112), huevos/larvas de arenque (35), larvas de cangrejo (35, 113), otros anfípodos gamáridos (34), o cumáceos (114). Por tanto, considerando la escasez de alimento se podría esperar un ligero incremento en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las barbas, debido a una pérdida de ^{14}N durante el metabolismo (particularmente en la parte sur de su migración), hasta el nuevo periodo de hiperfagia (primavera). Desafortunadamente hay pocos datos disponibles de mediciones isotópicas de las redes alimenticias que la ballena gris usa durante su migración.

El factor de enriquecimiento trófico relativo a ^{13}C inferido para el punto B de GW00 (Δ_{dt}) fue similar al valor (+2 ‰) reportado para la dermis de ballenas grises medidas por Caraveo-Patiño y Soto (87). En focas (piel, uñas y cabellos) Hobson y colaboradores (86) reportan un valor similar (2.8 ‰). Particularmente en el cuarto capítulo, los resultados isotópicos en el Δ_{dt} en el punto B de todos los adultos, sugirieron que éste no fue formado de la principal presa polar de ballena gris (*Ampelisca macrocephala*). Por el contrario, los registros isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ de los adultos sugieren que durante el último año de su vida ellos comieron en general sobre presas con un valor más alto $\delta^{13}\text{C}$. Esto sugiere que cuando el punto B fue formado cada una de las ballenas estaban distribuidas en diferentes redes alimenticias a lo largo de la ruta migratoria. Además, apoya la idea que anualmente no todas las ballenas completan su migración hasta las áreas de verano en el norte (Alaska) (35, 115-116). En consecuencia, algunas ballenas en verano probablemente comen en áreas más al sur a lo largo de las Costas de México y California (34, 117-118), Oregon (119), Washington (120-123), y British Columbia (35, 97, 124). Estas ballenas han sido referidas como residentes estacionales o de verano (37, 109, 125-126) o actualmente como las ballenas de “La Agregación de Alimentación de la Costa Pacífico” (89).

Con la información previa podemos considerar que cada registro de $\delta^{13}\text{C}$ representa una estrategia alimenticia diferente en el año dentro del corredor migratorio (antes y posterior a la formación del punto B). En este estudio se ha considerado que para todas las ballenas el periodo de hiperfagia está registrado sobre las barbas entre los puntos A y B, y el periodo “de máxima búsqueda de alimento” entre el punto B y C. Durante el periodo de hiperfagia fueron detectadas cuatro estrategias distintas para obtener alimento, es posible que algunas ballenas cambien el nivel trófico mientras permanecen en la misma red alimenticia, originando que en sus barbas se registren diferentes valores de $\delta^{15}\text{N}$ pero similares valores de $\delta^{13}\text{C}$ (por ejemplo, GW12 y GW31). Otra explicación puede ser que las ballenas se muevan entre redes alimenticias que difieren en $\delta^{15}\text{N}$ pero no en $\delta^{13}\text{C}$. Alternativamente, algunos animales pueden moverse entre redes alimenticias con distinto $\delta^{13}\text{C}$ pero relativamente similares en $\delta^{15}\text{N}$ (por ejemplo, GW11). También, que las ballenas se mueven para comer entre áreas con diferentes valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (por ejemplo, GW00, GW11, GW32). Aunque no se debe descartar la posible combinación entre los escenarios anteriores.

Durante el periodo denominado “máxima búsqueda de alimento” (entre los puntos B y C) de los registros de $\delta^{15}\text{N}$ fue notorio que todas las ballenas presentaron un incremento en los valores de $\delta^{15}\text{N}$. Si las ballenas grises no comen mientras ellas migran o cuando ellas permanecen en las áreas de invierno se puede esperar que ellas solo dependan de la capa de grasa y del músculo formado del previo periodo de hiperfagia por tanto, se podría esperar que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ solamente reflejen el catabolismo de estos tejidos hasta el próximo periodo de hiperfagia. Los resultados isotópicos de carbono del cuarto capítulo no apoyan esta hipótesis, debido a que mientras las ballenas atraviesan la escasez de alimento hay un cambio en su distribución a lo largo de su corredor migratorio, como una consecuencia de una extensa búsqueda de alimento tanto en ambientes pelágicos como bentónicos, lo cual podría explicar los cambios de la tendencia global de $\delta^{13}\text{C}$ entre los puntos B y C, así como también los pequeños

cambios en los valores de $\delta^{15}\text{N}$. Dunham y Duffus (111) mostraron que ballenas grises en Clayoquot Sound, British Columbia, cambiaron presas y tácticas de alimentación rápidamente para tomar ventaja de la disponibilidad de energía de manera corta. Valores enriquecidos con nitrógeno orgánico particulado son a menudo asociados con áreas de surgencias (127). Por tanto, es factible esperar cambios en los valores isotópicos a lo largo del eje de las barbas, si los animales se mueven regularmente entre zonas ricas de nutrientes y aquellas con menor contenido (58).

Es interesante notar que las ballenas que murieron en Bahía Magdalena (GW00, GW31 y GW32) mostraron un valor promedio de -18.2‰ para el valor probable de $\delta^{13}\text{C}$ correspondiente al tejido más recientemente formado. Este valor es similar al medido (-18.4‰) en los anfípodos gamáridos detectados como alimentos en esta laguna. Lo que apoya la aseveración de que estos animales se movieron entre distintas tramas tróficas que difieren geográficamente y en su composición isotópica. Conductas, similares han sido demostradas en otras ballenas de barba en el Ártico (96).

Los valores isotópicos de carbono apoyan la explicación que las ballenas grises se distribuyen en una amplia región durante primavera, verano y otoño, al menos desde la parte norte de California hasta al sur de Alaska. También, que dentro de ésta región, las ballenas grises se mueven ampliamente en un periodo anual o interanual (128).

Se demostró que las barbas de ballena gris contienen un historial de información útil para incrementar nuestro conocimiento de la vida de la ballena gris. Sin embargo, es necesario más información desde otra estrategia metodológica (por ejemplo LC-PUFA) para probar la hipótesis de la dieta vs ayuno en las áreas de crianza de Baja California Sur, México.

Conexión eco-fisiológica entre los LC-PUFA y el incremento anual de ballenas grises

Los resultados en la dermis (es decir concentraciones similares de ARA y DHA entre ballenas) confirmaron que todos los especímenes muestreados tienen la misma condición fisiológica basada en estos ácidos grasos, mientras permanecen en Bahía Magdalena.

El análisis de las concentraciones ARA, EPA, y DHA y de EPA/ARA de la capa de grasa de ballena y de los de la fauna, mostraron que a pesar de los perfiles similares entre la fauna del Mar de Bering y la capa de grasa, la relación de la fauna del Mar de Bering fue significativamente más alta que aquella de la capa de grasa. Éste hecho implica que la relación de EPA/ARA fue alterada antes de haber sido depositada en la capa de grasa. Lo cual ha sido confirmado en estudios realizados en otros mamíferos marinos (por ejemplo, focas, 72). Diferentes explicaciones fueron consideradas para apoyar la conclusión anterior: una es por que el EPA tiene una interferencia competitiva con la acción de los eicosanoides formados a partir del ARA (129-130); otra, por que las altas relaciones en los tejidos de EPA en relación al ARA, tienden a disminuir la acción de los eicosanoides derivados del ARA (129-130). Ello, por que los eicosanoides derivados del EPA son frecuentemente antagónicos o tienen un menor efecto fisiológico que aquellos formados del ARA (130). Por tanto es factible que la relación de EPA/ARA fijadas en la capa de grasa es la relación que mantiene el balance entre los efectos fisiológicos de los eicosanoides correspondientes a nivel de tejido y al nivel general del cuerpo de las madres de ballenas grises.

Si se considera las deficiencias en la conducta y el crecimiento, causadas por un suplemento sin la satisfacción del balance entre ARA y DHA durante el desarrollo del cerebro en mamíferos (81), una pregunta debe ser planteada dentro de este estudio con ballena gris: ¿El monto de los LC-PUFA en la capa de grasa de las madres de ballenas grises, puede satisfacer el ARA y el DHA durante el alumbramiento y la crianza en las lagunas de reproducción? Una explicación es que un suplemento adicional de ARA y DHA es necesario en las lagunas de reproducción; otra, es nuevamente el total ayuno y

uso del ARA y DHA de la capa de grasa; y otra más, es la síntesis a partir de sus precursores moleculares. Sin embargo, la síntesis no es factible, debido a la gran cantidad de Acyl-CoA que bloquean la síntesis de ácidos grasos en aquellos organismos con altos contenidos de grasas en las dietas, o aquellos forzados a usar las reservas de triglicéridos (131). El ayuno total implica mover el ARA y DHA de la capa de grasa. Pero esta opción podría representar una desventaja para las madres de ballena gris porque ha sido considerado en otros mamíferos, (por ejemplo conejos, 132), que la tasa de movilización de ácidos grasos del plasma no es proporcional a las concentraciones en el tejido adiposo, más bien está influenciada por su *estructura* molecular (20:5 n-3 > 20:4 n-6 > 18:3 n-3 > 22:6 n-3 > 18:2 n-6). Más aún, por que ha sido confirmado en algunos mamíferos (ratones y humanos), que la transformación de PUFA (ácidos grasos poliinsaturados) de 18 carbonos a ARA y DHA es ineficiente, debido a una combinación de factores como la alta demanda de estos ácidos durante la máxima tasa de crecimiento del cerebro, altas tasas de oxidación de PUFA por energía e ineficiente capacidad enzimática, por una limitada tasa de conversión y reciclamiento de substratos (14). Adicionado a que se ha corroborado también en ratones y humanos, que el ARA y DHA son acumulados rápidamente en la materia gris del cerebro durante el desarrollo del cerebro, por lo que la composición de este órgano refleja la disponibilidad de estas moléculas en la dieta de las madres (81).

Sí es necesario que las ballenas grises madres deban mantenerse en movimiento durante la parte final de la gestación y los primeros meses de la lactancia, es posible pensar que el ayuno es una desventaja en la sobrevivencia tanto de las madres como para sus crías. Esta aseveración puede sustentarse en que en otros mamíferos (ratones), que existe una fuerte preferencia metabólica en el cerebro por el DHA preformado (14, 81); además, que con altas raciones de DHA y EPA con respecto al contenido de ARA en la dieta, el EPA reemplaza al ARA en la estructura del tejido adiposo (130). Más aún, Wainwright et al (133), ha demostrado en estos mamíferos que adicionar ARA a la dieta

incrementa los niveles de ARA en el cerebro, y en altas raciones disminuye el contenido de DHA; por otro lado incrementando la ración de DHA en la dieta, se incrementó el DHA pero se disminuyó el ARA, aunado a que se detectó retro-conversión de DHA a EPA. Los resultados de este estudio (133), también mostraron que cuando se alimenta a ratas preñadas y lactantes con altos contenidos de DHA en su dieta, las crías mostraron una disminución del 12% en el peso al momento del destete. En este contexto se concluyó que un mal balance en la dieta de LC-PUFA $n3/n6$ ofrecida a las ratas preñadas y lactantes es lo mismo que una desnutrición en términos de los efectos sobre el desarrollo conductual de las crías (134).

Con la evidencia previamente mencionada, es difícil aceptar la hipótesis que las ballenas grises en su etapa final de gestación e inicio de la lactancia ayunan cuando permanecen en las lagunas de reproducción. Al contrario, los resultados presentados en este estudio enfatizan que cuando las ballenas grises preñadas generaron sus depósitos de grasa, modificaron la relación entre los LC-PUFA de su dieta en el Ártico para mantener la función fisiológica y modulación de la acción de sus eicosanoides; y cuando ellas están en las lagunas de reproducción, se sincroniza la satisfacción del óptimo balance de ARA y DHA tanto para ellas como para sus crías, mediante un apropiado suplemento alimenticio en las lagunas de reproducción.

Para mantener nuevamente el balance en la función fisiológica y modulación de la acción de sus eicosanoides. Una preformada fuente de ARA y DHA en las lagunas de alumbramiento y crianza podría conferir una ventaja significativa. Ello por que las presas de estas zonas (por ejemplo los anfípodos de los pastos marinos de Bahía Magdalena) ofrecen altas concentraciones de ARA con la misma relación de EPA/ARA como la que se fijó en la capa de grasa de las madres, así como también similar al contenido de DHA como el de sus presas de los mares de Bering y Chukchi (fuentes de alimento que generaron la capa de grasa de las madres).

El ARA de los tres LC-PUFA fue el ácido que registró el menor contenido tanto en los tejidos estudiados de las madres como en todas las presas. Ello fue interpretado de la manera siguiente. Como el ARA es escaso en las redes tróficas marinas (excepto en aguas tibias), hay poco en los triglicéridos de las capas de grasas, en contraste hay altos contenidos de EPA y el DHA, por que estos LC-PUFA son abundantes de manera general (comunicación personal del Michael A. Crawford, Director del Institute of Brain Chemistry and Human Nutrition, University of North London, Queen Elizabeth Hospital for Children).

La información de LC-PUFA en ballena gris corrobora lo que se ha sugerido en el campo de la medicina para mamíferos terrestres (ratones y humanos), y recientemente en peces, que el requerimiento óptimo para cualquiera de estas moléculas no se puede analizar separadamente. Más bien, deben ser considerados y definidos los montos relativos, es decir la relación entre los tres LC-PUFA, tanto a nivel de un tejido específico como a nivel de todo el cuerpo.

Con los resultados de LC-PUFA en ballena gris y el conocimiento sobre la evolución del cerebro en mamíferos (15) es posible proponer el siguiente postulado. La satisfacción de ARA y DHA requerida durante la máxima tasa de crecimiento de las crías de ballena gris (y probablemente de cualquier vertebrado), está sincronizado con la coordenada espacio-tiempo con la mayor probabilidad de satisfacer una correcta relación entre ARA, EPA y DHA, a partir de una relación biológica con otra forma de vida (*unidad*) que la contiene dentro de dicha coordenada de espacio-tiempo (es decir, las lagunas de reproducción para la ballena gris en invierno), para mantener en balance la función fisiológica y modulación de la acción de sus eicosanoides a cualquier nivel (es decir, de tejido o de todo el cuerpo), así como también entre el nacimiento y las otras formas de vidas (*unidades*) como un todo.

Comparación de la función fisiológica de las LC-PUFA en otros vertebrados (peces) y lo encontrado en ballena gris

Recientemente ha sido sugerido para todos los peses marinos la importancia del óptimo balance en la dieta de cualquier LC-PUFA (16). También se ha confirmado la inhabilidad para convertir 18:2n-6 a ARA (135), y la incapacidad de convertir 18:3n-3 (ALA) a EPA y DHA (136-138). Esto debido a una relativa ineficiencia de una de las enzimas en la ruta de conversión de ALA a EPA, es decir el C₁₈ a C₂₀ complejo enzimático de elongación (139), o la Δ 5-ácido graso desaturasa (140). Por tanto hasta ahora se comienza a reconocer el EPA, DHA y el ARA como ácidos grasos esenciales.

Si se considera la información del ARA mencionada en mamíferos previamente. También lo encontrado en peces, referente a que el ARA es el mayor precursor de eicosanoides, los cuales son biológicamente más activos que los derivados del EPA; que existe una interferencia competitiva entre los derivados de ambos como se ha reportado en mamíferos, debido a que a altas relaciones en los tejidos de EPA:ARA se disminuye la acción de los eicosanoides derivados del ARA (16); y que en peces los eicosanoides derivados del ARA (es decir, serie-2 prostaglandinas) están relacionados con la inducción al desove (137-138). Es posible proponer el siguiente postulado para vertebrados. Debido al hecho que tanto los mamíferos como los peces marinos requieren obtener ARA preformado durante su reproducción, el ARA se puede considerar como un factor biótico *clave* dentro de la dinámica de los ecosistemas marinos. Ello por que es crucial para la reproducción de ballenas (como *Eschrichtius robustus*), de peces y probablemente todos los vertebrados, y es obtenido como un suplemento adicional de la comunidad donde el alumbramiento ocurre en mamíferos, o donde toma lugar el desove en peces, así como en donde ocurre el primer periodo de crianza. Tal vez por que el ARA es un factor limitante en la evolución del cerebro en el ambiente marino, como ha sido manejado el DHA en el ambiente terrestre (141).

Aproximación teórica de la función fisiológica de las LC-PUFA a nivel de vertebrados, desde la perspectiva del mecanismo explicativo propuesto en el segundo capítulo.

Tomando en consideración los resultados obtenidos en este estudio de ballena gris, el conocimiento sobre la evolución del cerebro de mamíferos en el campo de la medicina, así como también los avances en peces marinos, es posible generalizar para ambos grupos y para los tres LC-PUFA el postulado anterior. Es decir, la satisfacción de ARA y DHA requerida durante la máxima tasa de crecimiento del cerebro en mamíferos o peces marinos (y probablemente todos los vertebrados), está sincronizada en la coordenada en espacio-tiempo con la más alta probabilidad de obtener la correcta interrelación entre ARA, EPA y DHA, a partir de una relación biológica con otra forma de vida que la contenga justo cuando ocurre el alumbramiento (en mamíferos) o el desove (en peces), y donde el primer periodo de crianza ocurre en ambos grupos. Ello con la finalidad de mantener un balance entre la función fisiológica y modulación de la acción de sus eicosanoides a cualquier nivel (tejido o de todo el cuerpo), así como también entre el nacimiento y las otras formas de vida como un todo. En consecuencia, también es posible unir este postulado dentro del mecanismo explicativo teórico propuesto en el segundo capítulo.

Si es imaginado un ecosistema con la dinámica interna de su estructura comunitaria como autodeterminada, lo abiótico especifica *la probabilidad* de que ocurran ajustes en la estructura de la comunidad en las distintas coordenadas de espacio-tiempo, y lo biológico (las interacciones intra e interespecificas) determina la *magnitud* de estos ajustes dentro de una dinámica interna continua a todo lo largo y ancho de la estructura del ecosistema. Bajo este escenario, cada especie de vertebrado marino (ya sea mamífero o pez), puede funcionar como una de las unidades del ecosistema (*unidades ecosistémicas*) las cuales determinan la *estructura biótica* del mismo, y los individuos que las integran, como las *componentes* que definen estas unidades.

Por tanto, cuando la *estructura biótica* en cualquier ecosistema se autodetermina, un incremento en el número de *componentes* (o individuos) de cualquier *unidad ecosistémica*, representa un *cambio o ajuste* más o menos complejo dependiendo del

tiempo y el espacio que se ocupe dentro del evento. Debido a que cualquier *ajuste* (incremento en número de individuos de cualquier *unidad*), debe estar sincronizado con la coordenada en espacio-tiempo con la más alta probabilidad de obtener la correcta interrelación entre ARA, EPA y DHA, a partir de una relación con otra u otras *unidades ecosistemitas* (formas de vida) que lo permitan. De esta manera, justo cuando ocurre un *ajuste*, en la dinámica interna de la *estructura biótica* (en otras palabras, cuando ocurre un alumbramiento (en mamíferos) o un desove (en peces), o donde el primer periodo de crianza ocurre en ambos grupos), existe un flujo de energía particular (una relación específica de LC-PUFA) de la red trófica en esa coordenada de tiempo y espacio hacia los nuevos integrantes (*componentes*) de las *unidades ecosistemitas*. El cual posiblemente está dirigido a mantener una organización particular o un balance eco-fisiológico desde el nivel molecular hasta el nivel global del ecosistema, como un todo.

De esta manera la perspectiva anterior, puede servir de base para una posible explicación al ¿Por qué la mayoría de las ballenas varadas durante 1999 en las lagunas de reproducción (México) fueron hembras adultas (78%)? (110). Si consideramos que las presas que consume la ballena gris en las lagunas de reproducción están relacionadas con los pastos marinos (*Z. marina*) (87), y que la desaparición estacional de la población anual de *Z. marina* puede ser relacionada con el incremento en la temperatura del agua (142-143). Se puede pensar que un evento como El Niño puede afectar la variación normal de los pastos de *Z. marina*, como se ha mencionado que ocurrió en la laguna de reproducción de ballena gris más norteña (Ojo de Liebre) durante febrero de 1999 (144), el mismo año de la gran mortandad de ballenas.

Por tanto, si consideramos que el incremento poblacional de los anfipodos relacionados con el desprendimiento normal de *Z. marina* se desfasó en el tiempo. La probabilidad de que las madres de ballena gris gestantes durante la estación de 1999 obtuvieran un adecuado suplemento adicional de alimento en las lagunas de reproducción, también pudo ser disminuida por El Niño, y en consecuencia también la

probabilidad de satisfacer la óptima relación de ARA, EPA y DHA. Bajo estas circunstancias ecológicas y una alta demanda de ARA y DHA, es posible pensar que las madres se vieron obligadas a usar sus reservas de ARA de sus capas de grasa y perder la capacidad de mantener el balance fisiológico, al disminuir sus niveles de eicosanoides derivados del ARA. Esta misma explicación se puede aplicar a la otra mortandad de 45 ballenas grises registrada durante 1991 (110), si se considera el evento El Niño reportado para ese periodo también.

La perspectiva del mecanismo generativo también es una posible explicación del ¿Por qué en otros mamíferos marinos (por ejemplo focas, *Phoca vitulina*, *P. groenlandica*, y *Cystophora cristata*) la composición de ácidos grasos de la leche de cada especie fue diferente de la composición de la capa de grasa de la cual fue producida?, y ¿Por qué en las diferencias sistemáticas entre la leche y la capa de grasa de la madre de cada especie fue el alto contenido de ARA y bajos contenidos de EPA? (145). Similarmente, ¿Por qué entre la composición de ácidos grasos de la capa de grasa de 10 fetos de ballenas minke (*Balaenoptera acutorostrata*) y la capa de grasa de sus madres, la más grande diferencia relativa fue detectada particularmente en el ARA, el cual fue alto en el feto y bajo en las madres? (146). También ¿Por qué en otros estudios con mamíferos marinos (por ejemplo focas, 102), la dieta de las madres es diferente antes y después de la estación de crianza? Las posibles diferencias con la explicación mencionada para la ballena gris, se relacionaran con las distintas estrategias que cada especie de mamíferos usa para lograr la satisfacción del ARA y del DHA en tiempos y espacios distintos a partir de otra forma de vida.

Conclusiones

Este estudio demostró que las barbas de ballena gris, contienen información histórica útil que incrementa nuestro conocimiento sobre su ecología alimenticia, y proveen evidencias de cambios nutricionales o de alimentación que suceden durante el último ciclo anual de vida aproximadamente.

Isotópicamente se demostró también que el periodo de mayor búsqueda de alimento comienza en otoño, al igual que otras ballenas de barbas. Se corroboró que la tasa de desgaste en adultos de ballena gris es alta, con una tasa de crecimiento aproximadamente de 6mm/semana. La cual se alcanza durante el primer año de vida.

Se ha demostrado que los análisis isotópicos de ballena gris pueden ser una herramienta útil para manejar diferencias en las localidades de alimentación, reconstrucción de movimientos históricos y posiblemente acerca de probables razones para las mortalidades.

Por otro lado, en lo relacionado a la conexión entre el incremento anual de ballenas grises y la función fisiológica de los LC-PUFA, se demostró que muy posiblemente la migración reproductiva de la especie hacia las lagunas de reproducción en México, esta relacionada con la necesidad de satisfacer una demanda de ARA y DHA requerida durante la máxima tasa de crecimiento del cerebro de las crías, mediante un suplemento adicional de LC-PUFA con una correcta relación entre ARA, EPA y DHA, a partir de una relación biológica con otra forma de vida en las lagunas de reproducción.

Los resultados encontrados sobre el ARA y su importancia fisiológica dentro de la reproducción de vertebrados, permitió sugerir que posiblemente el ARA es un factor limitante en la evolución del cerebro en el ambiente marino, como ha sido manejado el DHA en el ambiente terrestre

Desde el marco conceptual de la Biología Teórica, se puede concluir que el mecanismo generativo propuesto en el segundo capítulo está relacionado con los aspectos de la organización central en la Biología de los ecosistemas, no con aplicaciones de resultados provenientes de la física a fenómenos del mundo biológico. Más aún apoya la visión de Rosen (147), sobre la organización de los *sistemas vivos* en el contexto de la *Biología Relacional*, debido al hecho de que su perspectiva también sugiere una *propiedad fundamental* que ocurre para cualquier nivel de organización. Ya que son éstas *propiedades fundamentales* u *holísticas* las que delinear un vínculo hacia el concepto *vida*.

Por otro lado, el mecanismo generativo propuesto también corroboró las recomendaciones de Rosen (147), las cuales sugieren que para conocer como la Biología trabaja, deben ser descritas las partes biológicas, pero de manera sencilla y no depender sobre la gran variabilidad existente entre individuos.

Finalmente se ha demostrado que la dinámica interna de la estructura en un ecosistema si puede ser concebida como autodeterminada, como en las teorías de los sistemas M.R. y Autopoiéticos. Además, que una conexión entre estas teorías, el postulado de Caraveo-Patiño (22) y el marco conceptual de la Ecología, particularmente en el entendimiento de la dinámica interna de la estructura de los ecosistemas, resulta de gran utilidad para poder hacer la conexión entre el metabolismo de organismos individuales, la función de los LC-PUFA en la dinámica de los ecosistemas. También, para poder delinear la red de procesos que implican la interrelación de componentes a cualquier nivel de organización (es decir, molécula, célula, tejido, organismo, población, comunidad y ecosistema) como un todo. Esto no significa que el mecanismo generativo postulado describe dicha red de procesos en su totalidad, pero es posible tomarlo en cuenta como un paso hacia este fin.

Recomendaciones

Si es normal que dentro de las ballenas varadas a lo largo de las Costas de México anualmente, no se encuentre el valor de la presa principal de Alaska (*Ampelisca macrocephala*) en sus registros isotópicos de sus barbas, la estrategia de búsqueda para la posible explicación de la mortalidad anual debería de relacionarse con el área que utilizaron durante el periodo de hiperfagia previo. Con base en los resultados en este estudio es posible que cada año durante la escasez de alimento las ballenas grises usen áreas de alimentación dentro del corredor migratorio en zonas donde aún puedan encontrar alimento. Por tanto en años con una elevada escasez de alimento (i.e., cuando el evento El Niño ocurre) es de esperarse un efecto alto sobre mortalidades de ballenas grises.

Como pocos datos son disponibles acerca de las medidas isotópicas de las redes alimenticias usadas a lo largo del corredor migratorio por la ballena gris. Se enfatiza la necesidad de delinear más claramente los patrones isotópicos de las redes alimenticias que usa la ballena gris, y el continuo muestreo isotópico de estas ballenas en las redes alimenticias que lo soporten, lo cual indudablemente mostrará una nueva perspectiva de la ecología alimenticia de estos mamíferos marinos.

Los resultados de ácidos grasos enfatizan también la necesidad de incluir un extensivo análisis en biopsias de piel y grasa, de adultos y juveniles. A fin de evaluar las posibles diferencias entre los contenidos de los LC-PUFA entre sexos, clases de edad y entre las mismas lagunas de reproducción, así como también entre las redes alimenticias que usa a lo largo de su movimiento anual hacia Alaska.

Es recomendable corroborar dentro de otros mamíferos y peces marinos el mecanismo generativo finalmente propuesto para explicar la dinámica reproductiva, y por que no, extenderlo al campo de los invertebrados, ya que también se ha mencionado recientemente el crucial rol fisiológico de los LC-PUFA en su reproducción.

Bibliografia citada:

1. Belgrano, A. & J. H. Brown, 2002. Oceans under the microscope. *Nature* 419: 128-129.
2. Li, W. K. W., 2002. Macroecological patterns of phytoplankton in the northwestern North Atlantic Ocean. *Nature*: 419: 154-157.
3. Bekoff, M., 2000. Redecorating Nature: Deep science, Holism, feeling, and heart. *BioScience* 50: 635-635.
4. Colwell, R., 2000. The role and scope for an integrated community of biologist. *BioScience* 50: 199-200.
5. Covich, A., 2000. Biocomplexity and the future: The need to United disciplines. *BioScience* 50: 1035-1035.
6. Bonn, D., 2001. Biocomplexity: look at the whole, not the parts. *Lancet* (North American edition) 357: 288-288.
7. Lyn, M., 2001. Biodiversity to Biocomplexity: A multidisciplinary step toward understanding our environment. *BioScience* 51: 426-430.
8. Mervis, J., 1999. Biocomplexity blooms in NSF's research garden. *Science* 286: 2068 2069.
9. Rosenbluth, A., N. Wiener, & J. Bigelow, 1943. Behaviour, purpose and teleology. *Philosophy Science* 10: 18-24.
10. Von Bertalanffy, L., 1950. An outline of general system theory. *British Journal for the Philosophy Science* 1: 134-165.
11. Langton, C., 1989. *Artificial life: SFI Studies in the Science of complexity*. Addison-Wesley, California.
12. Letelier, J. C., G. Marín & J. Mpodozis, 2003. Autopoietic and (*M,R*) systems. *Journal of Theoretical Biology* 222: 261-272.
13. Browman, H. I., 1989. Embryology and ecology of ontogenetic critical periods in fish. *Brain Behavior and Evolution* 36: 443-449.
14. Broadhurst, C. L., Y. Wang, M. A. Crawford, S. C. Cunnane, J. E. Parkington, & W. F. Schmidt, 2002. Brain-specific lipids from marine, lacustrine, or terrestrial food resources: potential impact on early African Homo sapiens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 131: 653-673.
15. Crawford, M. A., 1992. The role of dietary fatty acids in biology: their place in the evolution of the human brain. *Nutrition Reviews* 50: 3-11.
16. Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Douglas, T. & Estevez, A. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutritional of fish. *Aquaculture* 177: 191-189.
17. Arts, M. T., R. G. Ackman, & B. J. Holub, 2001. "Essential fatty acids" in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Science* 58: 122-137.

18. Masuda, R., 2003. The critical role of docosahexaenoic acid in marine and terrestrial ecosystems: from bacteria to human behavior. In Browman, H. I. & A. B. Skiftesvik (eds) *The Big fish Bang*. Proceedings of the 26th annual larval fish conference. 2003, Published by the Institute of Marine Research. Norway, ISBN 82-7461-059-8: 249-256.
19. Boden, M., 1999. Is metabolism necessary? *British Journal for the Philosophy Science* 50: 231-248.
20. Rosen, R., 1958a. A relational theory of biological systems. *Bulletin of Mathematical Biophysics* 20: 245-341.
21. Maturana, H. & F. Varela, 1972. *D Máquinas a Seres vivos*. Editorial Universitaria. Universidad de Chile Santiago.
22. Carave-Patiño, J., 1999. Anfípodos bentónicos de Bahía de Petacalco Estado de Guerrero, México. Tesis de Maestría del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional. 62pp.
23. Maturana, H., & J. Mpodozis, 2000. The origin of species by jeans of natural drift. *Revista Chilena de Historia Natural*.73: 261-310.
24. Maturana 1990
25. Rice, D. W. & A. A. Wolman, 1971. The life history and ecology of the gray whale (*Eschrichtius robustus*). *American Society of Mammalogists, Special Publication* 3: 1-142.
26. Nerini, M., 1984. A review of gray whale feeding ecology. In Jones, M. L., S. L., Swartz & S. Leatherwood (eds), *The Gray Whale Eschrichtius robustus*. Academic Press, Orlando, Florida. 600 pp.
27. Highsmith, R.C., & K.O. Coyle, 1990. High productivity of northern Bering Sea benthic amphipods. *Nature*, 344: 862-863.
28. Gardner, S. C. & S. Chávez-Rosales, 2000. Changes in the relative abundance and distribution of gray whales (*Eschrichtius robustus*) in Magdalena Bay, Mexico, during an El Niño event. *Marine Mammal Science* 16: 728-738.
29. Blokhin, S. A., 1986. Observations of gray whales in their foraging areas in Bering Sea, 1984. Report of the International Whaling commission 36: 283-285.
30. Swartz, S. L., & M. L. Jones, 1987. At Play in Baja's San Ignacio Lagoon. *National Geographic Magazine* 171: 754-771.
31. Kim, S. I., & J. S. Oliver, 1989. Swarming benthic crustaceans in the Bering and Chukchi seas and their relation to geographic patterns in gray whale feeding. *Canadian Journal of Zoology* 67: 1531-1542.
32. Jones, M.L. 1990. The reproductive cycle gray whales based on photographic resightings of females on the breeding grounds from 1977-82. *In Individual recognition of cetaceans: Use of photo-identification and other techniques to estimate population parameters*.
33. Moore, S. E., & D. P. Demaster, 1997. Cetacean habitats in the Alaskan Arctic. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 22: 55-69.

34. Avery, W.E., & C. Hawkinson, 1992. Gray whale feeding in a northern California Estuary. *Northwest Science* 66: 199-203.
35. Darling, J. D., Keogh, K. E., & T. E. Steeves, 1998. Gray whale (*Eschrichtius robustus*) habitat utilization and prey species off Vancouver Island, B.C. *Marine Mammals Science* 14: 692-720.
36. Oliver, J. S., Slaterry, P. N., Silberstein, M. A., & E. F. O'Connor, 1984. Gray whale feeding on dense ampeliscid amphipods communities near Bamfield, British Columbia. *Canadian Journal of Zoology* 62: 41-49.
37. Pike, G.C. 1962. Migration and feeding of the gray whale (*Eschrichtius robustus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 19: 815-838.
38. Oliver, J. S., P. N. Slaterry, M. A. Silberstein & E. F. O'Connor, 1983. A comparison of Gray Whale *Eschrichtius robustus*, feeding in the Bering Sea and Baja California. *Fishery Bulletin* 81: 513-522.
39. Walker, T. J., 1971. The California Gray Whale Comes Back. *National Geographic Magazine* 139: 394-415.
40. Walker, T. J., 1975. Primer: With Special Attention to the California Gray Whale. [San Diego, CA]: Cabrillo Historical Association, Pub QL737.C4 W34 1975.
41. Swartz, S. L., & M. L. Jones, 1980. Gray Whales, *Eschrichtius robustus*, during the 1977-1988 and 1978-1979 Winter Seasons in Laguna San Ignacio, Baja California Sur, México. U.S. Department of Commerce, NTIS PB80-202989: 1-35.
42. Villa-Ramírez, B., K. S. Norris, G. Nichols, B. Wursig & K. Miller, 1981. Agrupamientos de ballenas grises, *Eschrichtius robustus* (Lilljeborg, 1861) y entrada a las bahías en Baja California Sur, México, como estrategias alimentarias. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zool.* 1: 447-478.
43. Norris, K. S., B. Villa-Ramírez, G. Nichols, B. Wursig & K. Miller, 1983. Lagoon entrance and other aggregations of gray whales, *Eschrichtius robustus*. In Payne, R. (eds), *Behavior and Communication of Whales*. Westview Press, Boulder, Colorado: 259-293.
44. Mate, B. R., & J. T. Harvey, 1984. Ocean movements of radio-tagged gray whales. In Jones, M. L., S. L., Swartz & S. Leatherwood (eds), *The Gray Whale Eschrichtius robustus*. Academic Press, New York: 577-583.
45. Sánchez-Pacheco, J. A., A. Vázquez-Hanckin, & R. De Silva-Dávila, 2001. Gray whales' mid-spring feeding at Bahía de los Ángeles, Gulf of California, México. *Marine Mammal Science* 17: 186-191.
46. Urey, H. C. 1947. The thermodynamics of isotopic substances. *J. Chem. Soc.* 1947: 562-581.
47. Hobson, K.A., & R.W. Clark, 1992a. Assessing avian diets using stable isotopes. I. Turnover of carbon-13. *Condor* 94: 181-188.

48. Lesage, V., Hammill, M. O., & K.M. Kovacs, 2001. Marine mammals and the community structure of the Estuary and Gulf of St Lawrence, Canada: evidence from stable isotope analysis. *Marine Ecology Progress Series* 210: 203-221.
49. Hobson, K. A. & J. L. Sease, 1998. Stable isotope analyses of tooth annuli reveal temporal dietary records: an example using steller sea lions. *Marine Mammal Science* 14: 116-129.
50. Owens, N. J. P., 1987. Natural variation in $\delta^{15}\text{N}$ in the marine environment. *Advance in Marine Biology* 24: 389-451.
51. Hobson, K. A., 1999a. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia* 120: 314-326.
52. Hobson, K. A., 1999b. Stable-carbon and nitrogen isotope ratios of songbird feathers grown in two terrestrial biomes: implication for evaluating trophic relationships and breeding origins. *Condor* 101: 799-805.
53. Tieszen, L. L., & T. W. Boutton, 1988. Stable isotopes in terrestrial ecosystem research. In *Stable isotopes in ecological research*. Edited by P.W. Rundel, J.R. Ehleringer, & K.A. Nagy. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 167-195.
54. Mizutani, H., Fukuda, M., Kabaya, Y., & E. Wada, 1990. Carbon isotope ratio of feathers reveals feeding behaviour of cormorants. *The Auk* 107: 400-403.
55. Hobson, K. A., & L. I. Wassenaar, 2001. Isotopic delineation of North American migratory wildlife populations: Loggerhead shrikes. *Ecological Applications* 11: 1545-1553.
56. Schell, D. M. & S. M. Saupe, 1993. Feeding and growth as indicated by stable isotopes. In Burns, J. J., J. J. Montague & C. J. Cowles (eds), *The bowhead whale*. Special publication No. 2, The Society for Marine Mammalogy, Lawrence, Kansas: 491-509.
57. Best, P. B., & D. M. Schell 1996. Stable isotopes in southern right whale (*Eubalaena australis*) baleen as indicators of seasonal movements, feeding and growth. *Marine Biology* 124: 483-494.
58. Hobson, K. A. & D. M. Schell, 1998. Stable carbon and nitrogen isotope patterns in baleen from eastern Arctic bowhead whales (*Balaena mysticetus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55: 1-7.
59. Ackman, R. G. 1980. Fish lipids. Part 1. In *Advances in fish science and technology*. Edited by J. J. Connell. Fishing News Books Ltd., Farnham, Surrey, England pp. 86-103.
60. Cook, H. W. 1985. Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes. In *Biochemistry of lipids and membranes*. Edited by D.E. Vance & J.E. Vance. Benjamin-Cummings Publishing Co., Inc. Menlo Park, California pp 181-211.
61. Ackman, R. G. & C. A. Eaton 1966. Lipids of the fin whale (*Balaenoptera physalus*) from North Atlantic waters. III. Occurrence of eicosanoic and docosaenoic fatty acids in the zooplankton *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars) and their effect on whale oil composition. *Can. J. Biochem.* 44: 1561-1566.

62. Desvillettes, Ch., G. Bourdier, C. Amblard & B. Barth, 1997. Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwat. Biol.* 38: 629-637.
63. Leveille, J. C., C. Amblard, & C. Bourdier, 1997. Fatty acids algal markers in a natural lacustrine phytoplankton. *J. Plankton Res.* 19:469-490.
64. Phleger, C. F., P. D. Nichols & P. Virtue, 1998. Lipids and trophodynamics of Antarctic zooplankton. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 120: 311-323.
65. Nelson, M. M., C. F. Phleger, B. D. Mooney, & P. D. Nichols, 2000. Lipids of gelatinous antarctic zooplankton: Cnidaria and Ctenophora. *Lipids* 35: 551-559.
66. Nelson, M. M., B. D. Mooney, P. D. Nichols & C. F. Phleger, 2001. Lipids of antarctic ocean amphipods: food chain interactions and the occurrence of novel biomarkers. *Mar. Chem.* 73: 53-64.
67. Ackman, R. G. & F. Lamothe, 1989. Marine Mammals. In *Marine biogenic lipids, fats and oils. II.* Edited By R. G. Ackman. CRC Press Inc., Raton, Fla. pp: 179-381.
68. 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.
69. Iverson, S. J., J. P. Y. Arnould & I. L. Boyd, 1997. Milk fatty acids signatures indicate both major and minor shifts in the diet of lactating Antarctic fur seals. *Canadian Journal of Zoology* 75: 188-197.
70. Grahl-Nielsen, O. & O. Mjaavatten, 1991. Dietary on fatty acids composition of blubber fat of seals as determined by biopsy: a multivariate approach. *Marine Biology* 110, 59-64.
71. Grahl-Nielsen, O., 1999. Comment: Fatty acid signatures and classifications trees: new tools for investigating the foraging ecology of seals. *Canadian Journal fisheries and Aquatic Science* 54: 1377-1386.
72. Grahl-Nielsen, O., M. O. Hammill, C. Lydersen & S. Wahlstrom, 2000. Transfer of fatty acids from female seal blubber via milk to pup blubber. *Journal of Comparative Physiology Part B* 170:277-283.
73. Grahl-Nielsen, 2001. Summary of factors that could potentially confound the interpretation of FA (fatty acids) composition and a summary of laboratory and field studies dealing with FA composition analysis. *Proc. Biennial Conference on Biology of Marine Mammals 14th 2001.* Abstracts. p. 86.
74. Iverson, S. J., O. T. Oftedal, W. D. Bowen, D. J. Boness & J. Sanpugna, 1995b. Prenatal and postnatal transfer of fatty acids from mother to pup in the hooded seal (*Cystophora cristata*). *J. Comp. Physiol. B*, 165: 1-12.
75. Iverson, S. J., & O. T. Oftedal, 1992. Fatty acid composition of black bear (*Ursus americanus*) milk during and alter the periodo f winter dormancy. *Lipids*, 27: 940-943.
76. Weber, P. C. Membrane phospholipid modification by dietary n-3 fatty acids: effects on eicosanoid formation and cell function, In *Biological membranes:*

- aberrations in membrane structure and function (ed. Karnovsky, M. L., Leaf, A. & Bollis L. C.) 101-114 (Alan R. Liss, New York, 1988).
77. de la Presa-Owens, S., S. M. Innis, & F. M. Rioux, 1998. Addition of triglycerides with arachidonic acid or docosahexaenoic acid to infant formula has tissue and lipid class-specific effect on fatty acids and hepatic desaturase activities in formula-fed piglets. *Journal of Nutrition* 128: 1376-1384.
 78. Innis, S. M., 2000. The role of dietary n-3 and n-6 fatty acids in the developing brain. *Developmental Neuroscience* 22: 474-480.
 79. Innis, S. M. & S. de la Presa-Owens, 2001. Dietary fatty acids composition in pregnancy alters neurite membrane fatty acids and dopamine in newborn rat brain. *The Journal of Nutrition* 131: 118-122.
 80. Wainwright, P. E., 1992. Do essential fatty acids play a role in brain and behavioral development?. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 16: 193-205.
 81. Wainwright, P. E., 2002. Dietary essential fatty acids and brain function: a development perspective on mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society* 61: 61-69.
 82. Sequeiros-Beltrones, D. A. 2002. Experiencias en metodología, taxonomía y ética científica en la Investigación en biología. *Ludus Vitalis* 18: 185-195.
 83. Cienfuegos, E., I. Cesar, & P. Morales, 1997. Carbon isotopic composition of Mexican honey. *Journal of Apicultural Research* 36: 169-179.
 84. DeNiro, M. J. & S. Epstein, 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42: 465-506.
 85. DeNiro, M. J. & S. Epstein, 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45: 341-351.
 86. Hobson, K. A., Schell, D. M. Renouf, D., & E. Noseworthy, 1996. Stable-carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstructions involving marine mammals. *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Science* 53: 528-533.
 87. Caraveo-Patiño, J. and Soto, L.A.. 2004. Stable carbon isotope ratios for the gray whale (*Eschrichtius robustus*) in the breeding grounds of Baja California Sur, Mexico. *Hydrobiologia*. (in press).
 88. Sumich, J. L., 2001. Growth of baleen of a rehabilitating gray whale calf. *Aquatic Mammals* 27: 234-238.
 89. National Marine Fisheries Service (NMFS). 2001. Draft environmental assessment on issuing a quota to the Makah Indian tribe for a subsistence hunt on gray whales for the years 2001 and 2002. Prepared by NMFS, NOAA, US Dept. Commerce. January 2001.
 90. Schell, D. M., V. J. Rowntree, & C. J. Pfeiffer, 2000. Stable-isotope and electron-microscopic evidence that cyamids (Crustacea: Amphipoda) feed on whale skin. *Canadian Journal of Zoology* 78: 721-727.
 91. Lee, R. F., Nevenzel, J. C. & G. A. Paffenhoefer, 1971. Importance of wax esters and other lipids in the marine food chain: phytoplankton and copepods. *Marine Biology* 9: 99-108.

92. Bligh, E. G. & W. J. A. Dyer, 1959. Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37: 911-917.
93. Folch, J., Lees, M., & G. H. A. Sloane-Stanly, 1957. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
94. Sato, M. & N. Murata, 1988. Membrane lipids. *Methods in Enzymology* 167, 251-259.
95. Swartz, S.L., & M.L. Jones, 1987. At Play in Baja's San Ignacio Lagoon. *National Geographic Magazine* 171: 754-771.
96. Schell, D. M., S. M. Saupé & N. Haubenstock, 1989. Bowhead whale (*Balaena mysticetus*) growth and feeding as estimated by $\delta^{13}\text{C}$ techniques. *Marine Biology* 103: 433-443.
97. Kasuya, T. & D. W. Rice, 1970. Notes on baleen plates and on arrangement of parasitic barnacle of gray whale. *The Scientific Reports of the Whales Research Institute* 22: 39-43.
98. Oftedal, O. T., 1993. The adaptation of milk secretion to constraints of fasting in bears, seals, and baleen whales. *Journal of dairy science* 76: 3234-3246.
99. Oftedal, O. T., 2000. Use of maternal as a lactation strategy in large mammals. *Proceedings of the Nutrition Society*. 59: 99-106.
100. Jones, R. J., M. M. Ludlow, J. H. Troughton & C. G. Blunt, 1981. Changes in the natural carbon isotope ratios of the hair from steers fed diets of C_4 , C_3 and C_4 species in sequence. *Search (Sydney)* 12: 85-87.
101. Boutton, T. W., H. F. Tyell, B. W. Patterson, G. A. Varga & P. D. Klein, 1988. Carbon kinetics of milk formation in Holstein cows in late lactation. *Journal of Animal Science* 66: 2636-2645.
102. Smith, S. J., S. J. Iverson, & W. D. Bowen, 1997. Fatty acid signatures and classification trees: new tools for investigating the foraging ecology of seals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 1377-1386.
103. Polischuk, S. C., Hobson, K. A., & M. A. Ramsay, 2001. Use of stable-carbon and nitrogen isotopes to assess weaning and fasting in female polar bears and their cubs. *Canadian Journal of Zoology* 79: 499-511.
104. Hobson, K. A., Alisauskas, R. T., & R. G. Clark, 1993. Stable-nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: implication for isotopic analyses of diet. *Condor*: 95: 388-394.
105. Minagawa, M., & E. Wada, 1984. Stepwise enrichment of $\delta^{15}\text{N}$ along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48: 1135-1140.
106. Hunt, G. L. 1995. Oceanographic processes and marine productivity in waters offshore of Marbled Murrelet breeding habitat. Pages 219-222. In C.J. Ralph, Jr., G. L. Hunt, M. G. Raphael, & J. F. Pitt (eds). *Ecology and conservation of Marbled Murrelet*. Gen. Tech. Rpt. PSW-GTR-152. Albany, CA: Pacific Southwest Research Station, Forest Service, USDA; 420pp.

107. Goering, J. J., Richards F. A., Codispoti, L. A., & R. C. Dugdale, 1973. Nitrogen fixation and denitrification in the oceans. Biogeochemical budgets. Proceedings of the International Symposium of Hydrogeochemistry and Biogeochemistry, II: 12-27.
108. Thomson, R. E., 1981. Oceanography of the British Columbia coast. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences: 56: 291 p.
109. Darling, J. D. 1984. Gray whales (*Eschrichtius robustus*) off Vancouver Island. In The gray whale *Eschrichtius robustus*. Edited by M.L. Jones, S.L. Swartz, & S. Leatherwood. Academic Press, Orlando Florida pp 257-287.
110. Le Boeuf, B. J., H. Perez-Cortez, M., J. Urban R., B. R. Mate, & F. Ollervides, U. 2000. High gray whale mortality and low recruitment in 1999: potential causes and implications. Journal of Cetacean Research and Management 2: 85-99.
111. Dunham, J. S., & D. A. Duffus. 2001. Foraging patterns of gray whales in central Clayoquot Sound, British Columbia, Canada. Marine Ecology Progress Series 223: 299-310.
112. Mulkins, L. M., Jelinski, D. E., Karagatzides, J. D., & A. Carr, 2001. Carbon isotope composition of mysids at a terrestrial-marine ecotone, Clayoquot Sound, British Columbia, Canada. Estuarine, Coastal and Shelf Science: 54: 669-675.
113. Dunham, J.S., & D.A. Duffus. 2002. Diet of gray whales (*Eschrichtius robustus*) in Clayoquot Sound, British Columbia, Canada. Marine Mammal Science 18: 419-427.
114. Jenkinson, R., Goley, D., Mallo, A., Teeples, N., Deutsch, S., Eberle, J., Rushton, A., & M. Niemeyer, 2001. Gray whale abundance distribution and foraging ecology in Northern California. Proc. Biennial Conference on Biology of Marine Mammals 14th 2001. Abstracts. p. 108.
115. Duffus, D. A., 1996. The recreational use of grey whales in southern Clayoquot Sound, Canada. Applied Geography: 16: 179-190.
116. Richardosn, S., 1997. Washington state status report for the gray whale. Washington Department of Fish and Wild life, Olympia, 20pp.
117. Patten, D. R., & W. F. Somaras, 1977. Unseasonable occurrences of gray whale. Bulletin of the southern California Academy of Sciences: 76: 206-208.
118. Mallonee, J. S., 1991. Behaviour of gray whales (*Eschrichtius robustus*) summering off the northern California coast, from Patrick's Point to Crecent City. Canadian Journal of Zoology 69: 681-690.
119. Sumich, J. L., 1984. Gray whales along the Oregon coast in summer, 1977-1980. Murrelet 65:33-40.
120. Flaherty, C. V., 1983. Observation of gray whales in Washington waters. Cetus: 5: 16-18.
121. Calambokidis, J., G. H. Steiger, & J. C. Cabbage, 1987. Marine mammals in the southwestern Strait of Juan de Fuca: Natural history and potential impacts in harbor development in Neah Bay. Final report for Contract No. DACW67-85-M-0046. Corps of Engineers, Seattle, Washington.

122. Calambokidis, J., G. H. Steiger, J. R. Evenson, J. C. Cabbage & R. W. Osborne, 1991. Gray whales in Puget Sound and the Strait of Juan de Fuca. Proceedings Puget Sound Research '91. Puget Sound Water Quality Authority, Olympia, Washington. pp 414-422.
123. Calambokidis, J., J. R. Evenson, T. E. Chandler, & G. H. Steiger, 1992. Individual identification of gray whales in Puget Sound in 1991. Puget Sound Notes 28: 1-4. Puget Sound Water Quality Authority, Olympia, Washington.
124. Halther, D. F. & J. D. Darling, 1974. Recent observations of gray whale in British Columbia. Canadian Field-Naturalist 88: 449-459.
125. Murison, L. D., D. J. Murie, K. R. Morin & J. da Silva Curiel, 1984. Foraging of the gray whale along of the west coast of Vancouver Island, British Columbia. In The gray whale *Eschrichtius robustus*. Edited by M.L. Jones, S.L. Swartz, & S. Leatherwood. Academic Press, Orlando Florida pp 451-463.
126. Weitkamp, L. A., R.C. Wissman, C. A. Simenstad, K. L. Fresh, & J. G. Odell, 1992. Gray whale foraging on ghost shrimp (*Callinassa californiensis*) in littoral sand flats of Puget Sound, U.S.A. Canadian Journal of Zoology 70: 2275-2280.
127. Altabet, M. A., & J. J. McCarthy, 1985. Temporal and spatial variations in the natural abundance of ¹⁵N in PON from a warm-Core-Ring. Deep Sea Research 37: 755-772.
128. Calambokidis, J., J. D. Darling, V. Deecke, P. Gearin, M. Gosho, W. Megill, C. M. Tombach, D. Goley, C. Toropova, & B. Gisborne, 2002. Abundance, range and movements of a feeding aggregation of gray whales (*Eschrichtius robustus*) from California to southeastern Alaska in 1998. J. Cetacean Res. Manage 4: 267-276.
129. Kaduce, T. L. & G. E. Jr. Folk, 2002. The essential fatty acids and the diet of polar bears. Pakistan Journal of Nutrition 1: 73-78.
130. Kurlak, L. O. & T. J. Stephenson, 1999. Plausible explanation for effects of long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) on neonates. Archives of Disease of Childhood, Fetal and Neonatal Edition 80: 148-154.
131. Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Bruening, & R. H. Doi, 2001. Bioquímica Fundamental. Limusa Noriega editores, México 735pp.
132. Conner, W. E., D. S. Lin, & C. Colvis, 1996. Differential mobilization of fatty acids from adipose tissue. Journal of Lipid Research 37: 290-8.
133. Wainwright, P. E., H.-C. Xing, L. Mutsaers, D. McCutcheon, D. Kyle. 1997. Arachidonic acid offsets the effects on mouse brain and behavior of a diet with a low (n-6):(n-3) ratio and very high levels of docosahexaenoic acid. Journal of Nutrition 127: 184-193.
134. Wainwright, P. E., E. Jalali, L. M. Mutsaers, R. Bell & S. Cvitkovic, 1999. An imbalance of dietary essential fatty acids retards behavioral development in Mice. Physiology & Behavioral 66: 833-839.
135. Bell, J. G. & J. R. Sargent, 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. Aquaculture 218: 491-499.

136. Sargent, J. R., R. J. Henderson & D. R. Tocher, 1989. The lipids. In J. E. Helver (eds), *Fish Nutrition*, 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA, pp 153-218.
137. Sargent, J. R., J. G. Bell, M. V. Bell, R. J. Henderson & D. R. Tocher, 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of Applied Ichthyology* 11: 183-198.
138. Sargent, J. R., D. R. Tocher, & J. G. Bell, 2002. The lipids. In J.E. Helver & R.W. Hardy (eds), *Fish Nutrition*, 3rd ed. Elsevier, USA, pp 181-257.
139. Ghioni, C., D. R. Tocher, M. V. Bell, J. R. Dick & J. R. Sargent, 1999. Low C₁₈ to C₂₀ fatty acids elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18:4*n*-3, to eicosapentaenoic, 20:5*n*-3, in cell line from turbot, *Scophthalmus maximus*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1437: 170-181.
140. Tocher, D. R. & C. Ghioni, 1999. Fatty acids metabolism in marine fish: low activity of fatty acyl Δ5 desaturation in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cells. *Lipids* 34: 433-440.
141. Crawford, M. A., M. Bloom, S. Cunnane, H. Holmsen, K. Ghebremeskel, J. Parkington, W. Schimdt, A. J. Sinclair & C. L. Broadhurst, 2001. Docosahexaenoic acid and cerebral evolution, In *Fatty Acids and Lipids - New Findings*, (ed. Hamazaki, T., Okuyama, H.) 88: 6-17 (World Rev. Nutr. Diet, Basel, Krager, Switzerland).
142. Phillips, R. C., 1983. Reproductive strategies of eelgrass (*Zostera marina*). *Aquatic Botany* 16: 1-20.
143. Meling-Lopez, A. E. & S. E. Ibarra-Obando, 1999. Annual life cycles of two *Zostera marina* L. populations in the Gulf of California: contrasts in seasonality and reproductive effort. *Aquatic Botany* 65: 59-69.
144. Sánchez-Lizaso, J. L., N. A. Santamaría-Gallegos & R. Riosmena-Rodríguez, 1999. Las praderas de *Zostera marina* L. en La Reserva de la Biosfera El Vizcaíno, México. pp 135-145. En *Actas de las I Jornadas Internacionales sobre reservas marinas*. Ministerio de Agricultura Pesca y alimentación.
145. Birkeland, A. O. Grahl-Nielsen, K. M. Kovacs & C. Lydersen, 2001. Mother to pup transfer of fatty acids in three seal species: Harbor seal (*Phoca vitulina*), Harp seal (*Phoca groenlandica*) and Hooded seal (*Cystophora cristata*). Proc. Biennial Conference on Biology of Marine Mammals 14th 2001. Abstracts. p 25.
146. Holvorsen, A. -K., O.Grahl-Nielsen & E. Olsen, 2001. The fatty acid composition of the blubber of fetuses and female Minke whale. Proc. Biennial Conference on Biology of Marine Mammals 14th 2001. Abstracts. p 90.
147. Rosen, R., 1991. *Life Itself. A Comprehensive Inquiry into the Nature, Origin and Fabrication of Life*. Columbia University Press.