



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS Y DENSIDAD DE ENERGÍA EN EL TIBURÓN
BALLENA (*Rhincodon typus*) Y SU SIMILITUD CON EL ZOOPLANCTON EN EL
GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA
BIÓL. STEPHANIE ITZEL VILLAGÓMEZ VÉLEZ

LA PAZ, B. C. S., MÉXICO,
FEBRERO DE 2020



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14
 REP 2017

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de LA PAZ, B.C.S. siendo las 12:0 horas del día 17 del mes de Diciembre del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de: CICIMAR para examinar la tesis titulada: "PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS Y DENSIDAD DE ENERGÍA EN EL TIBURÓN BALLENA (*Rhincodon typus*) Y SU SIMILITUD CON EL ZOOPLANCTON EN EL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO" por el (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	VILLAGÓMEZ	Apellido Materno:	VÉLEZ	Nombre (s):	STEPHANIE ITZEL
-------------------	------------	-------------------	-------	-------------	-----------------

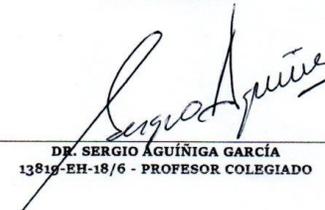
Número de registro: A 1 8 0 5 3 7

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de la lectura y revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **NO APROBAR** la tesis, en virtud de los motivos siguientes: "SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES"

Comité tutorial


 Dr. FELIPE GALVÁN MAGAÑA
 (Director de Tesis)
 13784-EJ-18/6 - PROFESOR COLEGIADO

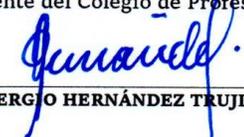

 DR. SERGIO ÁGUÍÑIGA GARCÍA
 13819-EH-18/6 - PROFESOR COLEGIADO


 DR. ROGELIO GONZÁLEZ ARMAS
 14609-EI-19/6 - PROFESOR COLEGIADO


 DR. RICARDO MEJÍA ZEPEDA
 (2º. Director de Tesis)
 PROFESOR OTRA INSTITUCIÓN


 DRA. LAURA CARREÓN PALAU
 PROFESOR - OTRA INSTITUCIÓN

Presidente del Colegio de Profesores


 DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO



I.P.N.
 CICIMAR
 DIRECCIÓN



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 24 del mes de Enero del año 2020

El (la) que suscribe BIÓL. STEPHANIE ITZEL VILLAGÓMEZ VÉLEZ Alumno (a) del Programa

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro A180537 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA y DR. RICARDO MEJÍA ZEPEDA

y cede los derechos del trabajo titulado:

PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS Y DENSIDAD DE ENERGÍA EN EL TIBURÓN BALLENA

(*Rhincodon typus*) Y SU SIMILITUD CON EL ZOOPLANCTON EN EL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: jimdoors_it@hotmailcom - galvan.felipe@gmail.com

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

BIÓL. STEPHANIE ITZEL VILLAGÓMEZ VÉLEZ

Nombre y firma del alumno



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS**



La Paz, Baja California Sur, 23 de Enero de 2020

H. COLEGIO DE PROFESORES DE CICIMAR
Presente

Por este conducto los miembros del comité de tesis de maestría **“PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS Y DENSIDAD DE ENERGÍA EN EL TIBURÓN BALLENA (*Rhincodon typus*) Y SU SIMILITUD CON EL ZOOPLANCTON EN EL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO”** de **STEPHANIE ITZEL VILLAGÓMEZ VÉLEZ**, certificamos que el trabajo de tesis es original con muestras biológicas recolectadas por el equipo de investigación del proyecto multidisciplinario institucional “Biología de las especies de tiburones en la costa occidental del Golfo de California” No. 1950.

Sin otro particular reciban un saludo.

ATENTAMENTE

DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA 

DR. ROGELIO GONZÁLEZ ARMAS  Rosalvo G.A.

DR. RICARDO MEJÍA ZEPEDA 

DRA. LAURA CARREÓN PALAU 

DR. SERGIO AGUÍNIGA GARCÍA 

Turnitin Informe de Originalidad

Procesado el: 20-ene.-2020 15:06 CST
 Identificador: 1244143759
 Número de palabras: 13262
 Entregado: 1

PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS Y DENSIDAD DE ENERGÍA EN EL

TIBURÓN BALLENA (*Rhincodon typus*) Y SU SIMILITUD CON EL ZOOPLANCTON EN EL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO Por Itzel Villagomez Velez

1% match (Internet desde 20-nov.-2017)
<http://www.redalyc.org/pdf/2656/265628467004.pdf>

< 1% match (Internet desde 10-dic.-2016)
<http://docplayer.es/13845394-Del-grupo->

[parlamentario-del-partido-verde-ecologista-de-mexico-la-que-contiene-punto-de-acuerdo-sobre-habitats-criticos.html](#)

< 1% match (Internet desde 04-oct.-2016)
<https://docs.com/chiken-reloko-salazar-de-la-torre/6933/krause-dietetoterapia-13ed>

Índice de similitud

7%

Similitud según fuente

Internet Sources:	6%
Publicaciones:	3%
Trabajos del estudiante:	4%

< 1% match (Internet desde 22-sept.-2015)

<http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3317/56.pdf?sequence=1>

< 1% match (Internet desde 20-may.-2012)

<http://fcm.ens.uabc.mx/~enriquez/complementos/proyectos/Tiburonballenaecoturismo.pdf>

< 1% match (trabajos de los estudiantes desde 29-nov.-2016)
 Submitted to Universidad de San Buenaventura on 2016-11-29

< 1% match (Internet desde 28-ago.-2010)

<http://www.ots.ac.cr/tropiweb/attachments/volumes/vol58-1/29-Cardenas-tiburon-ballena.pdf>

< 1% match (Internet desde 22-jun.-2017)

<http://direct.biostor.org/reference/168645.text>

< 1% match (Internet desde 31-oct.-2016)

<https://www.scribd.com/document/223147344/Propiedades-Dielectrica-de-Los-Alimentos>

< 1% match (publicaciones)

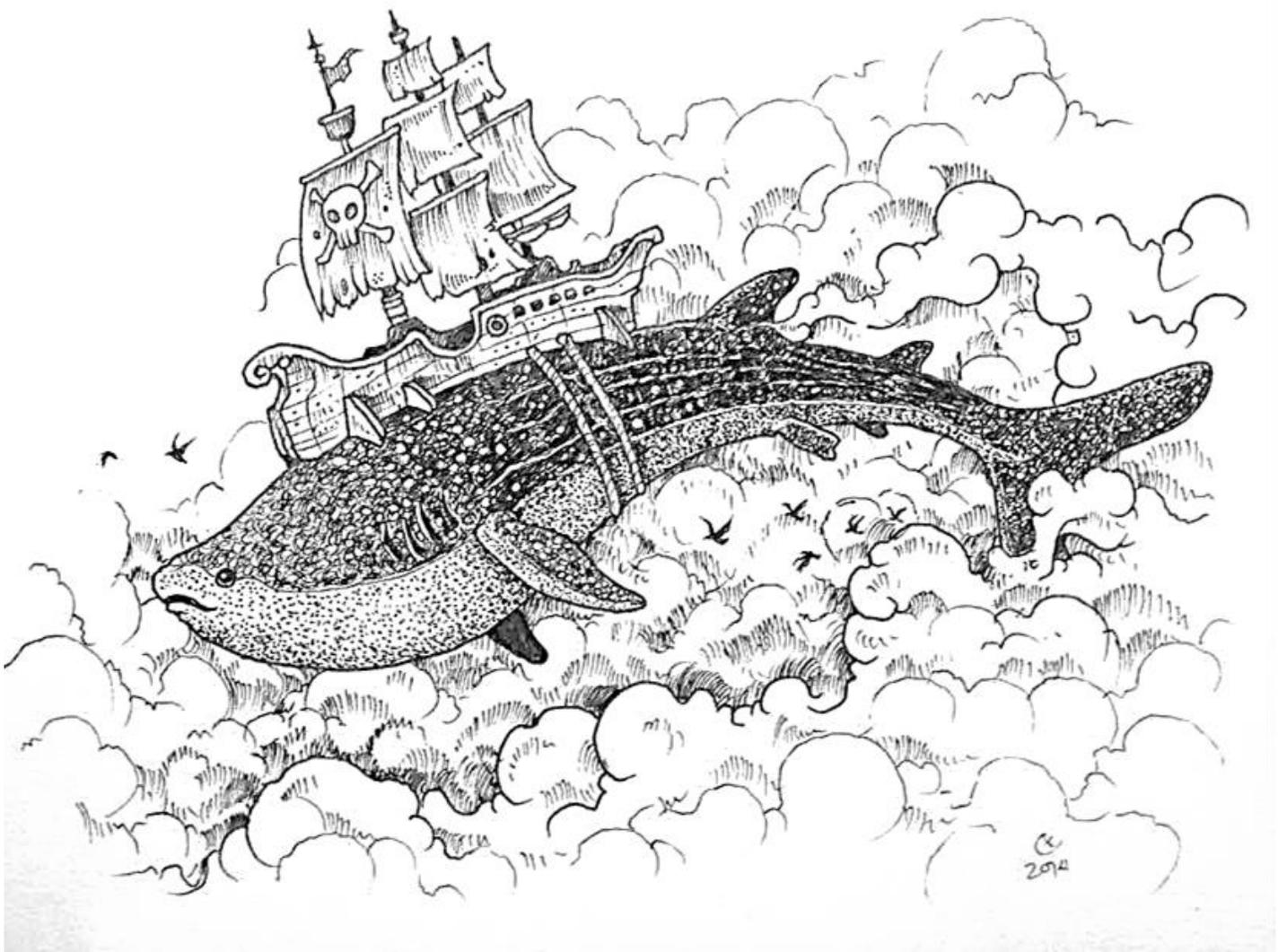
Ana Hacothen-Domené, Raúl O. Martínez-Rincón, Felipe Galván-Magaña, Natalí Cárdenas-Palomo et al. "Habitat suitability and environmental factors affecting whale shark (*Rhincodon typus*) aggregations in the Mexican Caribbean", *Environmental Biology of Fishes*, 2015

< 1% match (Internet desde 04-ene.-2020)

<https://www.bbc.com/mundo/noticias-44214458>

< 1% match (Internet desde 07-oct.-2019)

<https://peerj.com/articles/3271/>



Kerby Rosanes

*Dedicada a Irma, Martín, Pamela y Laika, quienes son el
sostén de mi vida, día a día.*

Agradecimientos

Al Dr. Felipe Galván Magaña, por aceptarme como tesista en el proyecto y el apoyo en la obtención de muestras.

Al Dr. Ricardo Mejía Zepeda del laboratorio de la Unidad de Investigación en Biomedicina (UBIMED), ubicada en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM por el apoyo en el procesamiento de muestras y el conocimiento aportado a esta tesis.

A la Dra. Laura Carreón Palau del Laboratorio de Biotecnología de Microalgas del CIBNOR, por todo el apoyo, tanto en el escrito, como en el procesamiento de las muestras, me ayudaste muchísimo, de verdad lo agradezco.

Al Dr. Rogelio González Armas porque sin su ayuda este trabajo no se hubiera realizado, muchas gracias por todo el apoyo.

Al comité revisor conformado por el Dr. Ricardo Mejía, Dra. Laura Carreón, Dr. Rogelio González Armas y el Dr. Sergio Aguñiga García, por su aporte en el desarrollo y escritura de este proyecto.

Al Dr. Abraham Vázquez-Haikin, por la estancia en Bahía de los Ángeles y el apoyo en las salidas con los tiburones.

Al apoyo y ayuda de las personas que hicieron posible este trabajo Eduardo Méndez, Paola F. y Darren Whitehead.

A CONACYT por la beca 890886 brindada para la realización de este proyecto.

ÍNDICE

Resumen	13
Abstract	14
GLOSARIO	15
1. Introducción	16
2. Antecedentes	19
3. Justificación	21
4. Objetivos	22
4.1 Objetivo general	22
4.2 Objetivos particulares	22
5. Metodología	23
5.1 Localidades de estudio	23
5.2 Obtención de muestras	26
5.3 Perfiles de ácidos grasos	29
5.4 Densidad de energía	34
5.5 Análisis estadístico	34
6. Resultados	36
6.1 Bahía de La Paz	36
6.1. 2 Contribución de ácidos grasos del zooplancton (presa)	36
6.1.3 Comparación de ácidos grasos entre el zooplancton y los tiburones.	37
6.1.4 Comparación de ácidos grasos entre sexos y tallas	39
6.1.5 Organismo varado	41
6.2 Bahía de los Ángeles	43
6.2.1 Comparación de ácidos grasos entre el zooplancton y los tiburones.	43
6.2.2 Organismo varado en Bahía de Los Ángeles.	47
6.3 Comparación entre Bahía de La Paz y Bahía de los Ángeles	48
6.4 Identificación de tiburones.	50
6.5 Densidad de energía.	50
7. Discusión	51
7.1 Ácidos grasos en cada zona de estudio	51
7.2 Ácidos grasos en cada tejido de tiburón ballena	51
7.3 Estimación de la similitud de ácidos grasos entre depredador y presa	53
7.4 Densidad de energía en los tiburones ballena	59
8. Conclusiones	60

9. Recomendaciones	61
Literatura citada	62

FIGURAS

Figura 1. Bahía de La Paz, Baja California Sur, México @2019Google.....	24
Figura 2. División de zonas en la Bahía de acuerdo a la zonación del Área de Refugio para la protección de tiburón ballena (<i>Rhincodon typus</i>), las zonas A, B y C.....	24
Figura 3. Bahía de los Ángeles, Baja California, México. @2019Google.....	26
Figura 4. Arrastre superficial de zooplancton.	27
Figura 5 Marca de la biopsia en el tiburón ballena (izquierda) y biopsia (derecha)...	27
Figura 6 . Tiburón ballena hembra (izquierda), macho (derecha).....	28
Figura 7. Foto ID del lado izquierdo del organismo, abarcando desde la quinta branquia, la aleta pectoral y parte del cuerpo (recuadro rojo).....	28
Figura 8. Tiburón ballena macho de 5.48 metros varado en La Bahía de La Paz.....	29
Figura 9. Muestra más concentrada.....	32
Figura 10. Muestra menos concentrada.....	32
Figura 11. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación entre zooplancton y tiburón ballena en la Bahía de La Paz (BLP). El perfil de AG mostró una disimilitud significativa de 47.29% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,45}=40.23$, $p=0.001$). Límite de contribución acumulativa 90%.....	39
Figura 12. Porcentaje promedio de ácidos grasos (AG) encontrados en los diferentes sexos de los tiburones en la Bahía de La Paz. Hembras (n=2). Machos (n=19). 40	
Figura 13. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación entre los tiburones de 3.0-4.5m y de 5.0-7.0m de longitud en la Bahía de La Paz (BLP). El perfil de AG mostró una disimilitud del 30% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,45}=0.443$, $p=0.822$).	41
Figura 14. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación entre zooplancton y tiburón ballena en la Bahía de Los Ángeles (BLA). El perfil de AG mostró una disimilitud significativa de 39.7% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,23}=15.41$, $p=0.001$). Límite de contribución acumulativa 90%.....	45
Figura 15. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación entre los tiburones de 4.0-6.0m y de 6.5-8.5m de longitud en Bahía de Los Ángeles (BLA). El perfil de AG mostró una disimilitud del 24.7% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,45}=0.606$, $p=0.682$).....	46
Figura 16. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación del zooplancton entre las áreas de alimentación del tiburón ballena de Bahía de Los Ángeles (BLA) y Bahía de La Paz (BLP) en el Golfo de California. El perfil de AG mostró una disimilitud significativa de 29.2% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,34}=3.99$, $p=0.001$). Límite de contribución acumulativa 90%.....	48
Figura 17. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación del tiburón ballena entre las áreas de alimentación de Bahía de Los Ángeles (BLA) y Bahía de La Paz (BLP) en el Golfo	

de California. El perfil de AG mostró una disimilitud significativa de 30.1% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,34}=5.13$, $p=0.001$). Límite de contribución acumulativa 90%..... 49

Figura 18. Incorporación diferenciada de los ácidos grasos poliinsaturados esenciales (%) en el tiburón ballena en la Bahía de La Paz. Los cuadros representan los tejidos y las flechas la dirección de la incorporación. 54

Figura 19. Incorporación diferenciada de los ácidos grasos poliinsaturados esenciales en el tiburón ballena en Bahía de Los Ángeles. Los cuadros representan los tejidos y las flechas la dirección de la incorporación..... 55

TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de similitud entre las zonas de colecta A, B, C y D en la localidad de Bahía de La Paz.	37
Tabla 2. Porcentaje de similitud entre los meses muestreados en Bahía de La Paz.	37
Tabla 3. Perfil de ácidos grasos en tejido dérmico de tiburón ballena (n=21) y zooplancton (n=24). SFA= AG saturados, MUFA= AG monoinsaturados y PUFA= AG poliinsaturados, NI= no identificados. (Media ± Error Estándar).	38
Tabla 4. Perfil de ácidos grasos en diferentes tejidos del tiburón ballena varado en el Mogote, Bahía de La Paz. Contenido estomacal (n=1), sangre (n=1), hígado (n=1), y músculo (n=1). No se presentan medias ni errores estándar debido a que solo fue una muestra de cada tejido.	42
Tabla 5. Perfil de ácidos grasos en tejido dérmico de tiburón ballena en Bahía de Los Ángeles (n=13) y zooplancton (n=11). SFA= AG saturados, MUFA= AG monoinsaturados y PUFA= AG poliinsaturados, NI= no identificados. (Media ± Error Estándar)	44
Tabla 6. Perfil de ácidos grasos en dos tejidos del tiburón ballena varado en Punta Bufo, Bahía de los Ángeles. Hígado (n=1), y músculo (n=1). No se presentan medias ni error estándar debido a que solo fue una muestra de cada tejido.	47
Tabla 7. Fracción lipídica en tejido dérmico de los tiburones, en las dos localidades de estudio. ps= peso seco, ph= peso húmedo. Medias ± intervalo de confianza al 95%.	50
Tabla 8. Densidad de energía en tejido dérmico de los tiburones ballena. Medias ± intervalo de confianza al 95%.	50

Resumen

El tiburón ballena *Rhincodon typus*, (Smith, 1828) es un organismo filtrador que se alimenta de zooplancton, sin embargo, no se conoce con certeza cuales presas son las que más consume. Los ácidos grasos (AG) incluidos el ácido araquidónico (ARA), ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA), son utilizados como trazadores tróficos en redes tróficas marinas, debido a que son esenciales para los peces marinos. En el presente estudio se identificaron las posibles presas dominantes de *R. typus* a través del análisis de perfiles de AG de sus diferentes tejidos y de zooplancton, en La Bahía de la Paz (BLP) y La Bahía de los Ángeles (BLA). Se colectaron biopsias de tejido dérmico de los tiburones con un arpón tipo hawaiano. En BLP fueron 21 muestras y en BLA 14. Además, se realizaron arrastres superficiales de zooplancton con una red cónica de 550 μm en BLP ($n=24$) y BLA ($n=11$). Adicionalmente, se obtuvieron muestras de hígado y músculo de un organismo varado en cada zona y una de contenido estomacal en BLP. Se realizó la extracción de lípidos totales para calcular la densidad energética y los lípidos se metilaron, para obtener los AG que se analizaron en un cromatógrafo de gases. La densidad de energía calculada para los tiburones en BLP ($3.8 \pm 0.4 \text{ KJ g}^{-1} \text{ ps}$) fue ligeramente menor que en BLA ($4.7 \pm 0.3 \text{ KJ g}^{-1} \text{ ps}$) siendo significativamente distintas. Se comparó el perfil de los AG de zooplancton vs tejido dérmico del tiburón ballena, SIMPER. Obteniendo una disimilitud estadísticamente significativa del 48% aplicando PERMANOVA ($p=0.001$) en BLP y una disimilitud del 39.7% estadísticamente significativa en BLA ($p=0.001$). Los AG poliinsaturados y la relación DHA/EPA permitieron diferenciar a los copépodos como presas potenciales en las dos localidades del presente estudio. Los tejidos de tiburón ballena retienen los ácidos grasos según sus requerimientos metabólicos, por ejemplo, el tejido dérmico retiene ARA de manera preferencial en BLP y en zonas donde ya se realizaron previos estudios, mientras que en BLA se refleja un mayor porcentaje de DHA.

Palabras clave: relación trófica, ácidos grasos, zooplancton, Bahía de La Paz, Bahía de los Ángeles.

Abstract

Whale shark *Rhincodon typus*, (Smith, 1828) is a filter feeding animal that feeds of zooplankton, however, it is not known with certainty which preys are the most consumed. Essential long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) included Arachidonic acid (ARA), Docosahexaenoic acid (DHA) and Eicosapentaenoic acid (EPA), are used as trophic tracers in marine food webs because they are essential to marine fish. In the present study, the possible dominant preys were identified of *R. typus* through the analysis of fatty acid profiles of their different tissues and its prey zooplankton, in Bahía de La Paz (BLP) and Bahía de los Ángeles (BLA). Biopsies of sub-dermal tissue were collected from shark with a Hawaiian harpoon. A total of 21 samples were collected in BLP and 14 in BLA. Zooplankton was collected using 550 µm net mesh size by surface zooplankton tows in BLP (n=24) and BLA (n=11). Additionally, liver and muscle samples were obtained from a stranded organism in both zones and one stomach content from BLP. Total lipids were extracted to calculate energy densities and then lipids were methylated, to obtain FA methyl esters (FAME) that were analyzed in a gas chromatograph. The energy density calculated for sharks in BLP ($3.8 \pm 0.4 \text{ KJ g}^{-1} \text{ dm}$) it was slightly lower but significantly different than in BLA ($4.7 \pm 0.3 \text{ KJ g}^{-1} \text{ dm}$). The whale shark sub-dermal tissue FA profile was compared with zooplankton FA profiles with SIMPER. Obtaining a dissimilarity of 48% statistically significant using PERMANOVA ($p=0.001$) in BLP and a lower dissimilarity of 39.75% with $p=0.001$ in BLA. Copepods were differentiated as main prey in the two areas because their LC-PUFA proportion and ratio of DHA/EPA. The whale shark tissues retain fatty acids according to their metabolic requirement, for example, sub-dermal tissue retains ARA preferentially in study areas previous, with exception of BLA, where a higher percentage of DHA is reflected.

Keywords: Trophic relationship, fatty acids, zooplankton, Bahía de La Paz, Bahía de los Ángeles.

GLOSARIO

Ácido graso Son componentes de los lípidos, formados por cadenas largas de átomos de carbono, unido a un grupo carboxilo (COOH) en el extremo, conformando la parte polar y en la parte no polar, se presenta un grupo metilo (CH₃).

Ácidos grasos esenciales Son aquellos que los organismos no pueden sintetizar, por lo que necesitan ser adquiridos por medio del alimento debido a que los peces marinos no tienen las enzimas para sintetizarlos.

Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) Presenta un enlace doble en su estructura molecular.

Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) Tienen más de dos enlaces en su estructura molecular.

Ácidos grasos saturados (SFA) En su estructura molecular solo presentan enlaces sencillos entre átomos de carbono.

ARA Ácido araquidónico, compuesto por 20 carbonos y cuatro enlaces 20:4 ω 6. Ácido graso poliinsaturado, pertenece al grupo de los omega -6. En los peces marinos proviene de la dieta.

Cromatografía de gases Permite separar mezclas de compuestos volatilizables y térmicamente estables individualmente.

DHA Ácido docosahexaenoico, compuesto por 22 carbonos, 22:6 ω 3. Componente importante de la membrana lipídica.

EPA Ácido Eicosapentaenoico, compuesto por 20 carbonos, 20:5 ω 3. Precursor de eicosanoides como prostaglandinas, prostaciclina, entre otros.

Trazador trófico Es aquel que se puede rastrear a través de las redes alimenticias, ofreciendo información de las presas que ha consumido el depredador.

Requerimiento metabólico Son las transformaciones biológicas, físicas y químicas que demanda el organismo para su supervivencia.

1. Introducción

El tiburón ballena (*Rhincodon typus*, Smith, 1828) es considerado el pez más grande del mundo, mide 20m de longitud total (LT) y pesa 34 toneladas (Chen *et al.*, 2002), habita en los océanos tropicales y subtropicales, con temperaturas que oscilan entre 23 y 35 °C (Colman, 1997; Compagno, 2001). Esta especie es altamente migratoria, recorriendo 24 km/día (Eckert & Stewart, 2001). Se han observado agregaciones estacionales de tiburón ballena alrededor del mundo, en Estados Unidos, Belice, Honduras, Colombia, Australia y México, entre otros países. En este último país es posible observarlo en el Golfo de México, las costas de Nayarit y Baja California (Compagno, 2001; Eckert & Stewart, 2001; González *et al.*, 2010). La amplia distribución de *R. typus* está asociada a forzamientos oceanográficos como las surgencias, corrientes marinas y frentes oceánicos que incrementan la productividad primaria y secundaria (Eckert & Stewart, 2001; Duffy, 2002). Las zonas de mayor importancia de agregación de tiburón ballena en México son el Golfo de México y el Golfo de California. En este lugar se ha avistado esta especie en Bahía de la Paz en los meses de octubre a marzo mientras que, en Bahía de los Ángeles durante los meses de junio a noviembre, asociado a un incremento de biomasa planctónica, observando a *R. typus* alimentándose en la superficie. Se conoce que 20% de los organismos comparten estos dos sitios (Clark & Nelson, 1997; Eckert & Stewart, 2001; Ketchum, 2003; Ramírez-Macías *et al.*, 2012).

Este tiburón incluye en su dieta alimenticia a presas de especies planctónicas (copépodos, camarones, larvas de gasterópodos y bivalvos, misidáceos, eufáusidos, cangrejos y sus larvas) especies nectónicas de tallas pequeñas (sardinias, anchovetas, atún albacora y calamar) y desove de algunos peces como pargos (*Lutjanus cyanopterus* y *L. jocu*) y *Euthynnus alletteratus* (bacotera o bonito) al igual que desove de coral (Compagno, 1984; Last & Stevens, 1994, Taylor, 1994, 1996; Clark & Nelson, 1997; Taylor & Pearce, 1999; Heyman *et al.*, 2001; Wilson & Newbound, 2001; Wilson *et al.*, 2001; Nelson & Eckert, 2007). También incluye fitoplancton y macroalgas las cuales se cree son consumidas accidentalmente (Colman, 1997).

Al ser un organismo filtrador, el tiburón ballena tiene una estrecha vinculación con la red alimenticia pelágica (Nelson & Eckert, 2007), estas redes son estudiadas a través de la ecología trófica para entender los patrones y dinámicas de las comunidades, así como conocer el papel ecológico de cada especie dentro del ecosistema que habitan y determinar el régimen alimenticio, dietas y relaciones ecológicas, ya sea de depredación o de competencia entre los distintos organismos (Jaramillo, 2009; Tripp-Valdez, 2010).

Los estudios de ecología trófica permiten obtener información sobre la dieta de los individuos definiendo la relación depredador-presa (López-Peralta & Arcila, 2002). Para ello existen distintos métodos, como análisis de contenido estomacal, sin embargo, esta técnica no se puede llevar a cabo en especies protegidas, como es el caso del tiburón ballena, el cual actualmente está catalogado como especie amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010, en peligro de extinción en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés) y enlistada en el Apéndice II del CITES (CITES; www.cites.org) por ello las técnicas que permiten obtener valores elementales e isotópicos de carbono y nitrógeno así como los perfiles de ácidos grasos, son las más adecuadas para el estudio de la ecología trófica de esta especie (Pierce & Norman, 2016).

Los perfiles de ácidos grasos son utilizados para obtener información de la dieta de los organismos y como trazadores tróficos en ambientes marinos, debido a que los ácidos grasos (AG) son liberados de moléculas de lípidos por medio de la digestión, pero no se catabolizan en su totalidad siendo absorbidos por los tejidos. Esta absorción casi intacta permite que los AG se retengan a través de las redes alimenticias, de forma preferencial el ácido docosahexaenoico (DHA), ácido araquidónico (ARA) y ácido eicosapentaenoico (EPA), representando la ingesta durante días, semanas o meses, dependiendo de la especie, sus tasas de energía y almacenamiento (Iverson, 2009; Carreón-Palau *et al.*, 2013). Debido a la naturaleza fibrosa del tejido dérmico en elasmobranchios y a que presenta una vascularización insuficiente se sugiere una baja actividad metabólica. Por lo que las tasas de recambio serían más lentas para ácidos

grasos, por lo tanto, los perfiles pueden reflejar la dieta en un periodo de varios meses (Marcus *et al.*, 2016).

2. Antecedentes

El metabolismo de lípidos en condriictios presenta una variedad de almacenamiento en los tejidos, en tiburones grandes como es el caso del tiburón ballena, se ha reportado que el papel de los lípidos se encuentra más relacionado con la flotabilidad que como reserva de energía (Ballantyne, 2015). Sin embargo, en estudios previos se han utilizado los perfiles de ácidos grasos como indicadores de la dieta, en diferentes especies de elasmobranquios. En *Rhincodon typus* se han realizado cuatro estudios para determinar su ecología trófica usando ácidos grasos como trazadores. En el sur de Mozambique y Australia oriental Couturier *et al.*, (2013) reportaron que en el tejido dérmico de *Rhincodon typus* encontraron altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados n-6 (LC-PUFA), dominados por el ácido araquidónico. Asimismo, Rohner *et al.*, (2013) abarcaron la zona sur de Sudáfrica además de Mozambique, obteniendo como resultado un 40% de similitud de AG entre presas y depredador. Al comparar los perfiles de AG de los tiburones ballena con los de sus presas, encontraron que los AG de los tiburones, contenían más ARA, pero menos EPA y DHA que sus presas. En estos dos estudios se propuso que la dieta de los tiburones ballena consiste de zooplancton demersal. Basados en el contenido estomacal Rohner *et al.*, (2013) propusieron que esta especie se alimenta de noche en aguas profundas o durante la migración vertical de los misidáceos. Sin embargo, no muestran el perfil de AG de los misidáceos para verificar si contienen una alta proporción de ARA y se basan en que hay una mayor proporción de AG de origen bacteriano asociado al fondo.

Por otro lado, Marcus *et al.*, (2016) en Australia, mostraron que el tejido dérmico de tiburón ballena contiene un bajo nivel de lípidos (4.0 mg g^{-1}) en tejido seco y determinan una densidad energía de 18.7 kJ g^{-1} de tejido seco. Dichos autores, encontraron que la dieta de *R. typus* también incluye misidáceos y anfípodos con una similitud en su perfil de ácidos grasos del 56%, así como de krill e isópodos con una similitud del 45%, mientras que las muestras de zooplancton mezclado con una similitud de 53%, en la relación depredador-presa.

En el Caribe mexicano, Cárdenas-Palomo *et al.*, (2018), señalan que el ácido graso más abundante en tejido de tiburón ballena fue el ácido esteárico 18:0 ($26.8 \pm 1.0\%$),

seguido por el ácido palmítico 16:0 (25.1±0.9%). Este último fue el ácido con el porcentaje más elevado en las muestras de zooplancton mezclado y huevos de pez con 33.3% y 27.1%, respectivamente, sin embargo, lo relaciona con la síntesis *de novo* de estos organismos y del tiburón ballena. En cuanto al ARA obtuvieron 8.3% en el tejido dérmico de los tiburones, siendo el AG más bajo en el zooplancton (1.4%) y los huevos de peces (2.7%). Comparando los valores en el tejido dérmico del DHA (1.9%) y EPA (0.7%), fueron menores que en zooplancton con porcentajes de DHA (8.2%) y EPA (5.6%) y en huevos de peces con valores de DHA (4.8%) y EPA (2.1%). Además, el porcentaje de disimilitud entre el tiburón ballena y zooplancton fue de 41.9% y entre el tiburón y los huevos de peces de 38.3%.

3. Justificación

Este estudio es la línea basal que aportará información de los ácidos grasos presentes en las posibles presas potenciales de *R. typus*, para inferir cuál es el alimento principal que consume en las zonas de agregación del Golfo de California, así mismo la densidad energética permitirá evaluar la mejor condición nutricional en Bahía de La Paz y Bahía de los Ángeles.

.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Identificar las presas dominantes del tiburón ballena (*Rhincodon typus*) a través de perfiles de ácidos grasos y comparar la densidad de energía en su tejido, en Bahía de la Paz y Bahía de los Ángeles, Golfo de California.

4.2 Objetivos particulares

- Caracterizar el perfil de ácidos grasos de las presas (zooplancton) de tiburón ballena en las dos zonas de estudio.
- Detectar los ácidos grasos característicos del zooplancton en sangre, contenido estomacal, hígado, músculo y tejido dérmico de tiburón ballena.
- Estimar el grado de similitud entre el perfil de los ácidos grasos de las presas y los depredadores en las dos localidades de estudio.
- Calcular la densidad de energía en tejido dérmico de tiburón ballena y comparar las dos localidades de estudio como una medida de condición nutricional.

5. Metodología

5.1 Localidades de estudio

Bahía de la Paz (BLP).

Es la bahía más grande en el lado occidental del Golfo de California. Situada en 24 ° 10' Latitud N y 110 ° 20 ' Longitud O, con una extensión de 8,200 Ha, está protegida por la isla San José, al norte, y por el archipiélago de las islas de Espíritu Santo al este (De Silva-Dávila y Palomares-García, 2002). La temperatura media anual del agua que presenta esta zona es de 24.7 °C. Por otro lado, se presentan cambios en los vientos del día a la noche. De noviembre a mayo (invierno) provienen del Noroeste por la mañana y después del crepúsculo cambian a vientos del sur. Durante el resto del año (verano) dominan los vientos del sureste durante el día y del suroeste después del crepúsculo (Murillo-Jiménez, 1987). Presentando una capa de mezcla y termoclina en verano de (junio a septiembre) con temperaturas de los 25 a 29°C y en invierno (diciembre a marzo), una capa mixta, sin una termoclina definida con temperaturas de 19 a 22°C. (Obeso-Nieblas *et al.*, 2004; Sánchez-Velasco *et al.*, 2006). (Obeso-Nieblas *et al.*, 2008). Este patrón de vientos estacional, desempeña un papel importante en la circulación superficial de la bahía, pudiendo generar un desplazamiento de agua y afloramiento de nutrientes en el invierno (Jiménez-Illescas *et al.*, 1994). La biomasa zooplanctónica muestra una variabilidad estacional en esta bahía, con mayores volúmenes en invierno y primavera y volúmenes bajos en verano y otoño, como respuesta a una alta productividad primaria (De Silva-Dávila, 1997; Lavaniegos & González-Navarro, 1999) Se ha observado la abundancia de tiburones ballena alimentándose en esta zona asociado a la presencia y abundancia de copépodos en específico de las especies *Acartia*, *Undinula* y *Corycaeus* (Hacohen-Domené *et al.*, 2006) (Figura 1).

La Bahía de La Paz se dividió en cuatro zonas A (búsqueda de tiburón ballena), B (centro del Mogote), C (estación control) y D (inicio de área de búsqueda). Esto con el fin de abarcar toda la zona de avistamiento del tiburón en la bahía (Figura 2).

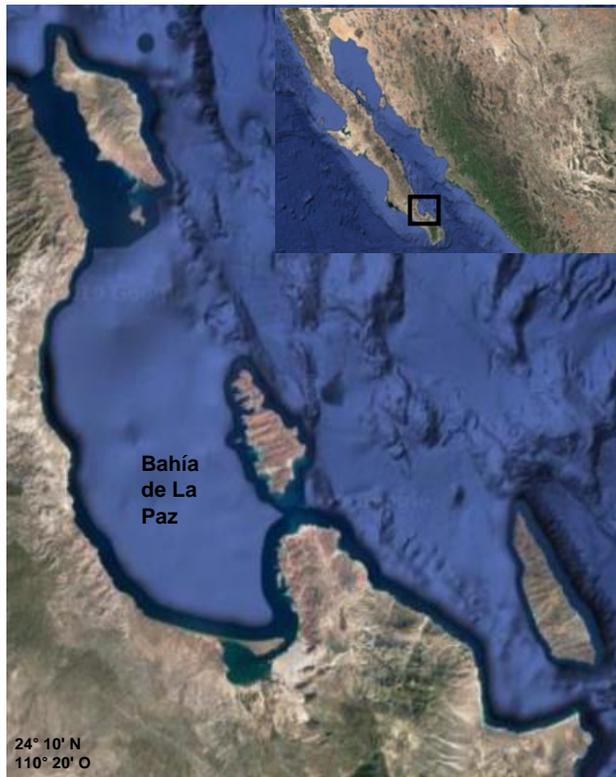


Figura 1. Bahía de La Paz, Baja California Sur, México @2019Google

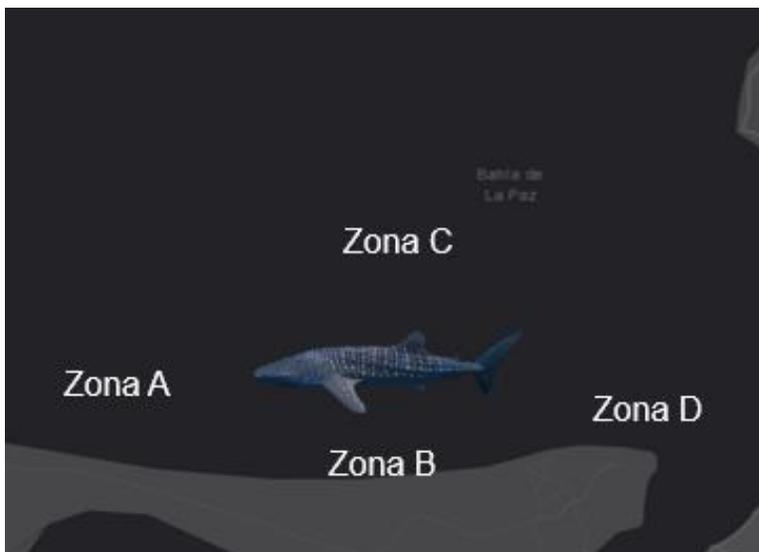


Figura 2. División de zonas en la Bahía de acuerdo a la zonación del Área de Refugio para la protección de tiburón ballena (*Rhincodon typus*), las zonas A, B y C.

Bahía de los Ángeles (BLA).

Esta bahía se ubica 28 ° 51' - 29 ° 03' Latitud N y 113 ° 26' - 113 ° 36' Longitud O, en la costa oriental de Baja California. La bahía se abre hacia el canal de ballenas y el intercambio de agua entre la bahía y el canal permite que la mezcla de agua fría y cálida, aumenten la productividad primaria de la zona (Bustos-Serrano *et al.*, 1996; Delgadillo-Hinojosa *et al.*, 1997). Cuenta con una extensión de 16 km de longitud y 6.4 km de ancho. Su temperatura anual es de 22.7 ± 1.4 °C (Hernández-Nava M. & Álvarez-Borrego, 2013). Bahía de Los Ángeles presenta tres condiciones anuales que influyen en la distribución de nutrientes: invierno (con vientos norte y noroeste), verano (con vientos del este y sureste) y condiciones de primavera y otoño (vientos con grandes variaciones en direcciones e intensidades). Estos vientos aumentan la fuerza y turbulencia de las corrientes marinas superficiales, causando una mezcla vertical de las aguas ricas en nutrientes, aflorando hacia la superficie (Álvarez-Borrego, 1983; Buenrostro, 1991). Se tiene una predominancia de copépodos del género *Acartia* en septiembre (79.4%, 1.6×10^3 ind m⁻³) y noviembre (50.9%, 12.3×10^3 ind m⁻³), al igual que de cladóceros en esta zona, durante septiembre, noviembre y diciembre, meses en los que se ha observado la presencia de tiburón ballena alimentándose (Hernández-Nava & Álvarez-Borrego, 2013) (Figura 4).



Figura 3. Bahía de los Ángeles, Baja California, México. @2019Google

5.2 Obtención de muestras

Los muestreos se realizaron a bordo de una lancha con motor fuera de borda de CICIMAR-IPN, durante los meses de temporada de *R. typus*, en Bahía de la Paz (octubre a marzo de 2017 a 2018) y en Bahía de los Ángeles (octubre a noviembre del 2018) con una lancha particular.

Simultáneamente se realizaron arrastres superficiales de zooplancton, en la misma zona donde el tiburón se encontraba alimentándose, con una red cónica de 505 micras de luz de malla (Figura 4). Se registró la hora, la temperatura superficial del mar (TSM) con una computadora de buceo, el flujo de agua con un flujometro durante 5min a una velocidad de 2 nudos y la posición geográfica con un GPS. Las muestras se colocaron en frascos cubiertos con papel aluminio.



Figura 4. Arrastre superficial de zooplancton.

Se tomaron biopsias de tejido dérmico de tiburón ballena (21 en Bahía de La Paz y 19 en Bahía de los Ángeles) con un arpón tipo hawaiana y una punta modificada (Fig.5). Se registraron, el sexo del organismo por medio de la presencia (macho) o ausencia (hembra) de gonopterigios (Figura 6), el tamaño, la hora, la ubicación geográfica por medio de un GPS y se tomó la foto identificación con una cámara Nikon w300 (Figura 7).



Figura 5 Marca de la biopsia en el tiburón ballena (izquierda) y biopsia (derecha).



Figura 6 . Tiburón ballena hembra (izquierda), macho (derecha).

La identificación de los tiburones se realizó usando el programa i3s classic versión 4.02. Se marca en la foto el inicio de la quinta branquia (punto naranja) y el final de la misma (punto morado), así como la terminación de la aleta pectoral (punto amarillo), posteriormente se marcan los puntos que entran dentro de este polígono (puntos color rosa) marcando un mínimo de 12 puntos. Finalmente se busca al organismo en la base de datos (Figura 7).

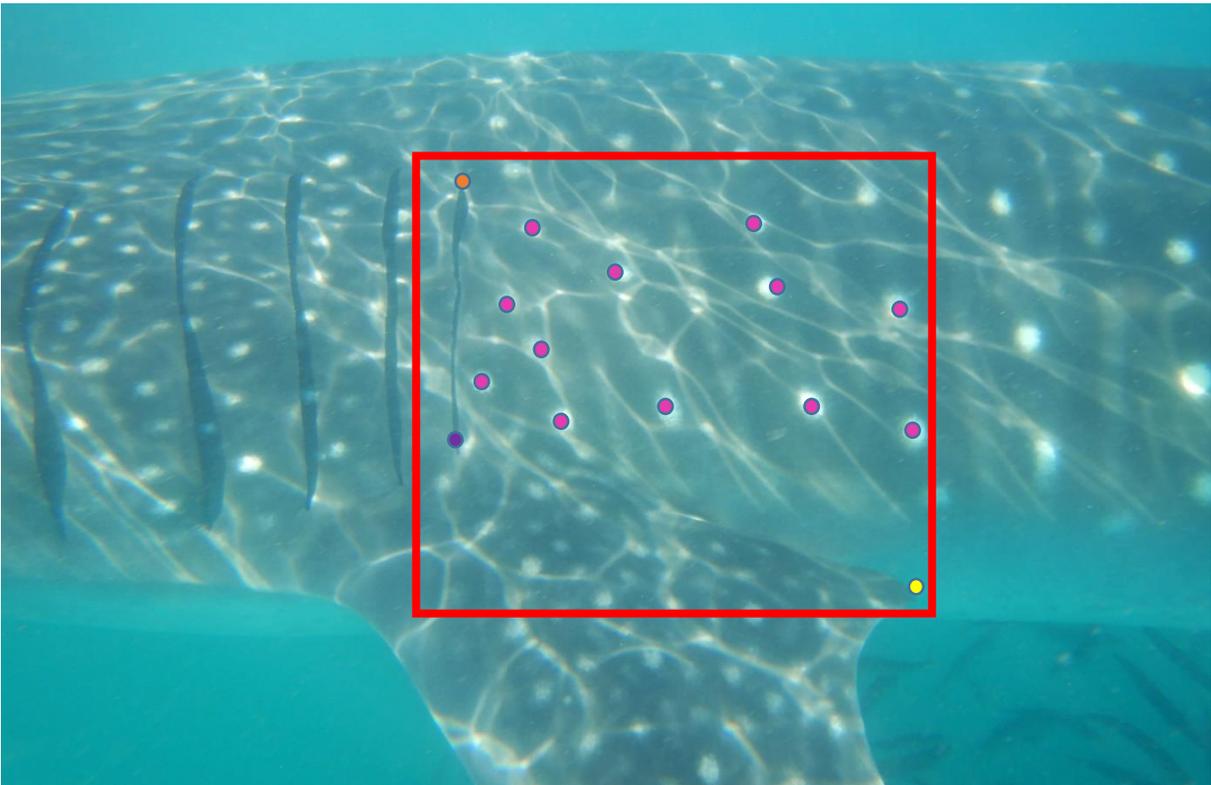


Figura 7. Foto ID del lado izquierdo del organismo, abarcando desde la quinta branquia, la aleta pectoral y parte del cuerpo (recuadro rojo).

En cada zona de estudio se encontró un organismo varado, en Punta Bufeo (PB), (29°54'28N; 114° 26'19W) en BLA el 24 de mayo de 2017 y en el Mogote (24.0832°N, 110.1839°W) en BLP el 16 de febrero 2018 (Figura 8), de estos se tomaron muestras de músculo e hígado y solo del organismo en BLP se colectó adicionalmente una muestra de sangre y del contenido estomacal. Todas las muestras obtenidas de los tiburones y del zooplancton se congelaron a -40°C.



Figura 8. Tiburón ballena macho de 5.48 metros varado en La Bahía de La Paz.

5.3 Perfiles de ácidos grasos

Los perfiles de ácidos grasos de tejido dérmico, hígado, músculo y sangre, así como de zooplancton se realizaron en la Unidad de Investigación en Biomedicina (UBIMED), ubicada en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

Por medio de la siguiente técnica:

Extracción de lípidos totales

En el caso de todos los tejidos de tiburón ballena, tejido dérmico, músculo e hígado, se llevó a cabo el siguiente procedimiento, cabe resaltar que todas las muestras se procesaron en húmedo y solo la de sangre se liofilizó.

Extracción de Folch *et al.* 1957

Se homogeneizó en frío cada muestra (40mg) en 10ml de solución cloroformo-metanol 2:1 con un homogenizador Potter-Elvehjem y pistilo de vidrio durante 20min aprox. Se filtraron únicamente las muestras de hígado y músculo para evitar restos de los tejidos.

Posteriormente se centrifugaron a 1000rpm durante 10 min, una vez finalizada la centrifugación se colectó la fase clorofórmica, colocándose en frascos viales y evaporando el cloroformo bajo una corriente de nitrógeno.

Metilación de ácidos grasos

Transesterificación (Morrison & Smith, 1994.)

A cada muestra se le agregó 1ml de trifluoruro de boro (BF_3) al 14% en metanol, se generó una atmósfera de nitrógeno, cerrando los viales con una tapa de rosca y disco inerte de silicón con cubierta de teflón, colocándose posteriormente a baño María a 94°C (punto de ebullición de la CDMX), durante 30 min. Cabe resaltar que en la sangre se realizó este método directamente, sin pasar por la extracción previa de lípidos.

Cada muestra se dejó enfriar a temperatura ambiente, se les agrego un volumen de agua y dos volúmenes de hexano, agitándose y llevándose a una centrifugación a 1000rpm durante 10 min, después se colecto la fase superior que contenía los metil ésteres disueltos en hexano. Se colocaron en viales y se evaporó el hexano bajo un corriente de nitrógeno. Finalmente, los frascos viales se conservaron a -65°C protegiéndose de la luz con papel aluminio, para su posterior lectura en el cromatógrafo de gases.

Composición de ácidos grasos

Cromatografía de gases

Los metil ésteres se analizaron en un cromatógrafo de gases Clarus 500 Perkin Elmer controlado por computadora, con un inyector "Split/splitless" y un detector de ionización de flama (FID). Los ácidos grasos metil esterificados (FAME) de cada muestra se resuspendieron con 40 μl de hexano para el caso de tejido dérmico y músculo y se inyectaron 5 μl en el cromatógrafo 5 μl ; la muestra de hígado la muestra se resuspendio con 100 μl y se inyectó 1 μl .

Muestras de zooplancton

Extracción de lípidos totales

Las muestras se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min, con el fin de obtener una pastilla de zooplancton y desechar el exceso de agua,

Extracción por el procedimiento de Bligh & Dyer, 1959

Una vez obtenida la pastilla de zooplancton se colocó en un homogenizador Potter-Elvehjem con pistilo de vidrio, se le agregó cloroformo-metanol 1:2 y se homogenizó, Ya homogenizado se realizó un filtrado para eliminar los restos de tejido de los organismos, posteriormente se centrifugo a 4000 rpm durante 2min y se colecto la fase clorofórmica, colocándose en viales.

Metilación de ácidos grasos

Transesterificación (Morrison & Smith, 1994.)

Debido a que la fase clorofórmica tenía un gran volumen, solo se tomaron 100 µl de cada muestra y se colocaron en viales individuales, se evaporó el cloroformo y se agregó ½ ml de trifluoruro de Boro (BF₃) al 14% en metanol, el procedimiento que se siguió fue el ya mencionado en el punto 3.3.2.

Composición de ácidos grasos

Cromatografía de gases

Se realizó el mismo procedimiento en el equipo ya mencionado en el punto 3.3.3, sin embargo, en las muestras que se observaba menos concentradas de ácidos grasos (Figura 10), se resuspendieron en 40 µl de hexano y se inyectaron 4 µl, en el caso de las muestras que se veían concentradas (Figura 11) se resuspendieron con 100 µl y se inyectó 1 µl.



Figura 10.
Muestra menos
concentrada.

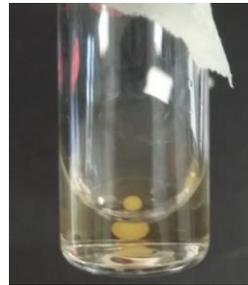


Figura 9.
Muestra más
concentrada.

Identificación y cuantificación de ácidos grasos

La identificación se realizó comparando los tiempos de retención de los picos de los ácidos grasos en la columna vs los estándares previamente inyectados. Para calcular la concentración de los ácidos grasos presentes en las muestras, se obtuvo el área bajo los picos que el equipo arrojó y se integró el área que el equipo no había integrado completamente.

La proporción de cada ácido graso se calcula con una regla de tres, donde las concentraciones de todos los ácidos grasos identificados se suman y se considera el 100%.

El contenido estomacal fue analizado en el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas del CIBNOR.

Extracción de lípidos

Se liofilizó la muestra previamente y se utilizó la técnica de Bligh y Dyer (1959) solo se cambió la proporción original de cloroformo: metanol: agua, 1:2:0.6, para extraer los lípidos polares más fácilmente.

Obtención de ácidos grasos

Se pesaron 3 mg del contenido estomacal ya liofilizado en un tubo de tapón de rosca previamente lavado con vgr. Micro-90.

Una vez obtenidos los lípidos totales, estos se derivatizaron para obtener ácidos grasos metil esterificados, para ello se utilizó la mezcla de ácido clorhídrico y metanol 5:95 respectivamente, a una temperatura de 85°C por 2.5 h (Sato y Murata, 1988). Una vez terminada la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente; se agregaron 1.5 mL de hexano y se mezcló con vortex por 20 segundos, para facilitar que los ácidos grasos metil-esterificados se disolvieran en el hexano. Después de esperar unos segundos a que se separen las dos capas, se colecta la capa superior (hexano) en un tubo limpio. En este paso es importante dejar una capa de hexano aproximadamente de 5mm de espesor para evitar contaminar el hexano recuperado.

Para una extracción más exhaustiva se agregaron otros 1.5 mL de hexano siguiendo el mismo procedimiento, se mezcla con vortex y se vuelve a recuperar en el mismo tubo donde se colocó el hexano. El volumen de hexano se ajustó para tener una concentración de lípidos final de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Composición de ácidos grasos

Cromatografía de gases

Los ácidos grasos metil esterificados se inyectaron en un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas Hewlett Packard GCD system modelo 1800B. La columna utilizada es una DB23 60m 0.25cm de diámetro y 0.25 micrómetros de espesor de la fase líquida.

Identificación y cuantificación de ácidos grasos

La identificación se realizó comparando los tiempos de retención de los picos de los ácidos grasos de la curva de calibración, confirmándose la identificación mediante los iones característicos del espectro de masas de cada uno de los ácidos grasos, que se generan al ingresar en la cámara de ionización electrónica. Para calcular la concentración de los ácidos grasos presentes en las muestras, se integró el área bajo los picos y se interpoló con una curva de calibración que relaciona 5 concentraciones conocidas (5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$), de cada uno de los 37 estándares de ácidos grasos metil esterificados, con sus respectivas áreas bajo el pico, siendo el área directamente proporcional a la masa en el sistema GC-MS. La proporción de cada

ácido graso se calcula con una regla de tres, donde las concentraciones de todos los ácidos grasos identificados se suman y se considera el 100%.

5.4 Densidad de energía

Se utilizaron 13 muestras de tejido dérmico de tiburón ballena de BLP y 8 de BLA, las cuales fueron procesadas en el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas del CIBNOR. El tejido dérmico se liofilizó durante 48 h, para la obtención de la fracción de agua (wf) y masa húmeda. La relación de masa seca (dm) se obtuvo tomando pesos antes y después del secado. Posteriormente se obtuvo la fracción lipídica por medio de la técnica de extracción de Bligh & Dyer, 1959 (APENDICE 2), de la masa seca (dm) y la masa húmeda (wm).

Finalmente se utilizaron las siguientes ecuaciones para obtener la densidad de energía (ED, kJg⁻¹ wm), utilizando los valores caloríficos publicados de 39.9 kJg⁻¹ para lípidos y 17.8 kJg⁻¹ para proteínas y carbohidratos (Schmidt-Nielsen, 1997; Pethybridge *et al.*, 2014; Marcus *et al.*, 2016)

$$ED = (1-WF) [(LF_{wm} \times 39.9) + (PCF_{wm} \times 17.8)]$$

$$ED = (LF_{dm} \times 39.9) + (PCF_{dm} \times 17.8)$$

5.5 Análisis estadístico

Debido a que el zooplancton se colectó en cuatro zonas de la Bahía de La Paz durante los meses de marzo, abril, mayo y junio. Se realizó un análisis de similitud entre zonas y meses. De igual manera, se compararon los grupos de tallas en BLA (4.0-6.0m y 6.5-8.5m); (3.0-4.5m) y (5.0-7.0m) en BLP y el sexo de los individuos, para saber si los tiburones se podían considerar como un solo grupo. Los sexos no se pudieron comparar porque el tamaño de muestra de las hembras fue muy bajo (2) en BLP y solo se obtuvieron muestras de machos en BLA.

Una vez que se determinó que la presa no tenía variación significativa debida a la zona, el mes y el depredador no variaba el sexo. Se realizó un análisis de similitud

porcentual (SIMPER) y se probó si las diferencias fueron significativas con un análisis multivariado de varianza basado en permutaciones. Las permutaciones permiten hacer un análisis de varianza incluso si los residuales no tienen una distribución normal (Permutational Multivariate Analysis of Variance: PERMANOVA) con el programa PRIMER ver 7+ PERMANOVA para determinar las similitudes y diferencias entre los perfiles de ácidos grasos del tiburón ballena (depredador) y el zooplancton (presa), así como las disimilitudes entre las zonas de estudio.

6. Resultados

6.1 Bahía de La Paz

Se obtuvieron 21 biopsias, compuestas por 19 machos y 2 hembras, así como 24 arrastres de zooplancton, durante la temporada de octubre a marzo, abarcando los años 2017-2018. Once de estos individuos tuvieron un intervalo de talla de 3.0-4.5m y diez de 5.0-7.0m. La TSM se mantuvo en un promedio de 27°C.

Del organismo varado en esta zona se obtuvo una muestra de hígado, músculo, sangre y se filtró el contenido estomacal.

6.1. 2 Contribución de ácidos grasos del zooplancton (presa)

Se identificaron los ácidos grasos presentes en la muestra de zooplancton identificando los de porcentaje más altos, incluyendo ácidos esenciales y no esenciales.

Los ácidos grasos saturados que presentaron mayor contribución fueron los saturados (saturated fatty acids: SFA) 16:0 (21.7%) y 18:0 (9.0%); segundo lugar los ácidos grasos monoinsaturados (monounsaturated fatty acids: MUFA) 18:1n9 (7.1%) y en cuanto a los ácidos grasos poliinsaturados (polyunsaturated fatty acids: PUFA), DHA (21.7%), EPA (12%) y ARA (4.2%).

Debido a que al aplicar SIMPER y PERMANOVA, se obtuvo que la similitud entre las zonas A, B, C y D, oscila entre el 71 y 74.1% (Tabla 1), equivalentes a una disimilitud que oscila entre 29 y 26% que no es significativamente distinta ($p=0.79$) no significativa, se eliminó esta clasificación y se consideraron como una localidad.

Tabla 1. Porcentaje de similitud entre las zonas de colecta A, B, C y D en la localidad de Bahía de La Paz.

Zonas	A	B	C	D
A	71.0			
B	72.2	71.3		
C	73.2	72.8	73.3	
D	73.5	71.9	74.1	73.3

Adicionalmente se encontró que hay una gran similitud en la composición de ácidos grasos entre los meses muestreados en la Bahía de La Paz, en un intervalo de 65 a 79% (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de similitud entre los meses muestreados en Bahía de La Paz.

	MARZO	ABRIL	MAYO	JULIO
MARZO	76.7			
ABRIL	70.8	65.4		
MAYO	76.2	69.9	75.5	
JULIO	79.0	71.4	77.1	77.4

6.1.3 Comparación de ácidos grasos entre el zooplancton y los tiburones.

En la Tabla 3 se muestran los perfiles de ácidos grasos de las biopsias de los tiburones y del zooplancton. Estos ácidos grasos se cuantificaron como porcentaje del total presentes en las muestras.

Los ácidos grasos saturados (SFA) son los que mostraron una mayor contribución en el tiburón con un 52.8%, en contraste, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) fueron los que más contribuyeron en el perfil del zooplancton con 41.7%.

Los ácidos grasos predominantes en el tejido dérmico de tiburón ballena son 16:0, 18:0 y 18:1n9, obteniendo una similitud interna entre los 21 organismos de acuerdo al SIMPER de 72%. En cuanto a zooplancton solo el 16:0 fue el de mayor porcentaje. Se observó que los ácidos grasos podrían discriminar la relación depredador-presa, así el

ARA tiene mayor porcentaje en el tiburón ballena y por lo tanto es más representativo, mientras que el DHA y EPA son más representativos en zooplancton.

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos en tejido dérmico de tiburón ballena (n=21) y zooplancton (n=24). SFA= AG saturados, MUFA= AG monoinsaturados y PUFA= AG poliinsaturados, NI= no identificados. (Media \pm Error Estándar).

Ácido graso	Tiburón ballena		Zooplancton	
12:0	0.8 \pm	0.3	0.01 \pm	0.01
14:0	2.2 \pm	0.2	3.9 \pm	0.3
16:0	23.1 \pm	1.1	21.7 \pm	0.9
17:0	1.0 \pm	0.1	1.0 \pm	0.5
18:0	22.3 \pm	1.9	9.0 \pm	0.8
20:0	1.9 \pm	0.5	1.3 \pm	0.7
22:0	1.1 \pm	0.5	0.0 \pm	0.0
24:0	0.1 \pm	0.0	0.04 \pm	0.04
Σ SFA	52.8 \pm	4.9	37.2 \pm	3.4
14:1	0.2 \pm	0.1	0.06 \pm	0.03
15:1	1.1 \pm	0.1	1.8 \pm	0.3
16:1n7	1.1 \pm	0.1	5.4 \pm	0.5
18:1n9	14.8 \pm	1.0	7.1 \pm	0.7
20:1	0.7 \pm	0.2	0.08 \pm	0.07
Σ MUFA	18.1 \pm	1.7	14.5 \pm	1.7
18:2n6	1.4 \pm	0.2	1.8 \pm	0.4
18:3n3	0.7 \pm	0.2	1.4 \pm	0.6
18:3n6	2.8 \pm	1.2	1.9 \pm	1.2
20:3	4.6 \pm	1.1	3.2 \pm	0.8
20:4n6 (ARA)	7.8 \pm	1.1	4.2 \pm	0.9
20:5n3 (EPA)	0.8 \pm	0.1	12.0 \pm	1.0
22:4n6	2.6 \pm	0.3	0.3 \pm	0.1
22:6n3 (DHA)	2.0 \pm	0.2	21.7 \pm	1.3
Σ PUFA	23.0 \pm	4.8	46.8 \pm	6.6
Σ NI	5.9 \pm	0.7	1.3 \pm	0.5
DHA/EPA	2.55		1.8	

En la figura 11 se observan los resultados obtenidos al aplicar el SIMPER, los ácidos grasos que contribuyeron principalmente a esta discriminación, los cuales fueron: el DHA (21.7%), el EPA (12.4%) y el 16:1n7 (5.5%) que son más abundantes en el zooplancton y el 18:0 (14.6%), 18:1n9 (15.5%), el ARA (7.7%), el 20:3n3 (4.6%), 18:3n6 (2.7%), 20:0(2.1%) y 22:4n6 (2.6%) que son más abundante en el tiburón ballena.

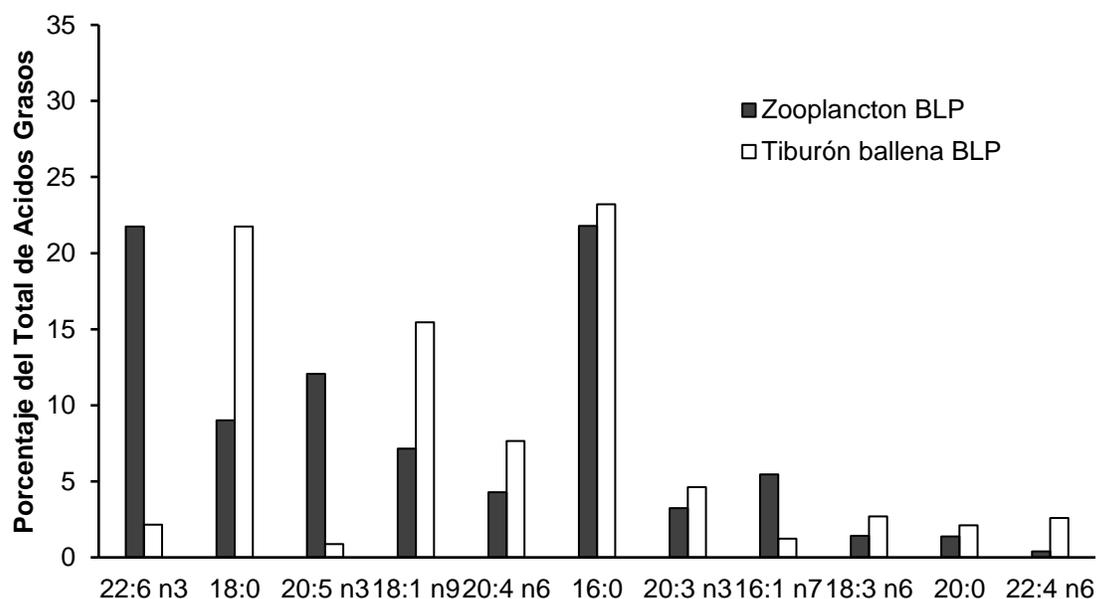


Figura 11. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación entre zooplancton y tiburón ballena en la Bahía de La Paz (BLP). El perfil de AG mostró una disimilitud significativa de 47.29% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,45}=40.23$, $p=0.001$). Límite de contribución acumulativa 90%.

6.1.4 Comparación de ácidos grasos entre sexos y tallas.

Al obtener un número menor de hembras, los datos podrían estar sesgados; sin embargo, la diferencia que existe entre el porcentaje de ácidos grasos esenciales es mínima entre machos DHA (2.1%), EPA (0.8%) y ARA (7.9%); y hembras DHA (1.0%), EPA (1.0%) y ARA (7.4%).

Sin embargo, en cuanto a los ácidos grasos saturados (SFA), el 16:0 tiene una mayor contribución en los machos, contrario a las hembras, las cuales presentan mayor porcentaje de 18:0 y 22:0. En cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), el 18:1n9 mostró el mayor porcentaje, difiriendo muy poco en los dos sexos. Finalmente, en los ácidos poliinsaturados (PUFA), además de los esenciales ya mencionados, en las hembras el 20:3n3 contribuyó con 6.7% y el 20:4n6 se mantuvo muy parejo en los dos sexos con un porcentaje de 7.9% en los machos y 7.4% en las hembras (Figura 12).

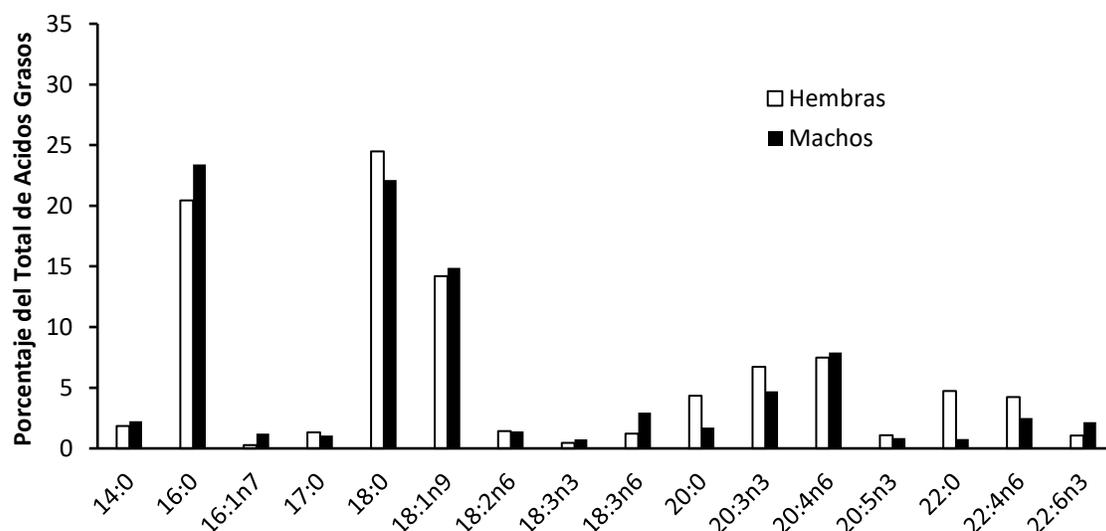


Figura 12. Porcentaje promedio de ácidos grasos (AG) encontrados en los diferentes sexos de los tiburones en la Bahía de La Paz. Hembras (n=2). Machos (n=19).

Se realizó una clasificación de tamaños de los tiburones de 3.0 a 4.5m (n=11) y 5.0 a 7.0m (n=10) (Figura 13).

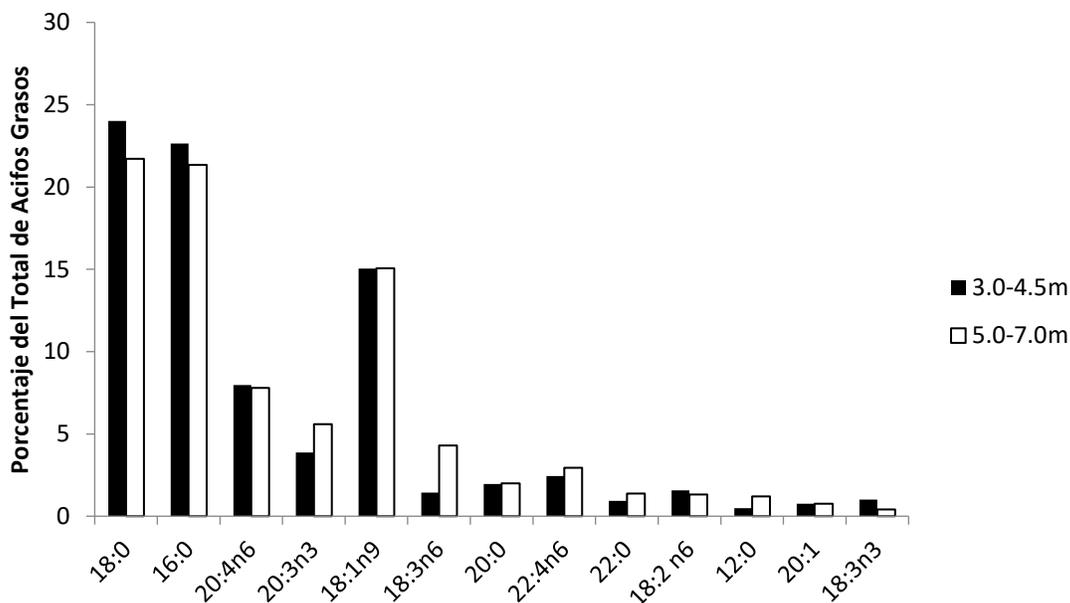


Figura 13. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación entre los tiburones de 3.0-4.5m y de 5.0-7.0m de longitud en la Bahía de La Paz (BLP). El perfil de AG mostró una disimilitud del 30% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,45}=0.443$, $p=0.822$).

No se encontraron diferencias significativas entre el perfil de ácidos grasos de los grupos de talla seleccionados a pesar de que tuvieron una disimilitud del 30% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,45}=0.443$, $p=0.822$). Cabe resaltar que la diferencia del porcentaje de ácidos grasos entre las tallas de los individuos no fue grande, el 18:0 con un porcentaje de 24.0% en el grupo de 3.0-4.5m y de 21.71 en el intervalo de 5.0-7.0m, y el 16:0 con un valor de 22.6% en organismos de 3.0-4.5m y de 21.3% en el grupo de 5.0-7.0m; son los que tuvieron una mayor contribución a esta similitud.

6.1.5 Organismo varado

En el organismo varado, colectado en la Bahía de La Paz, se analizaron el contenido estomacal, sangre, hígado y músculo. Los ácidos grasos saturados (SFA por sus siglas en inglés) fueron los más abundantes. Dentro de los SFA el 16:0 tuvo la mayor proporción en el contenido estomacal (22.1%), hígado (30.7%) y músculo (31.7%) (Tabla 4).

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos en diferentes tejidos del tiburón ballena varado en el Mogote, Bahía de La Paz. Contenido estomacal (n=1), sangre (n=1), hígado (n=1), y músculo (n=1). No se presentan medias ni errores estándar debido a que solo fue una muestra de cada tejido.

Ácido graso	Contenido estomacal	Sangre	Hígado	Músculo
12:0	2.4	0.02	0.04	0.05
14:0	6.7	1.1	3.9	2.8
16:0	22.1	7.5	30.7	31.7
17:0	3.7	0.7	0.8	0.5
18:0	8.9	8.0	4.0	4.3
20:0	1.4	46.2	0.9	4.5
22:0	1.7	0.0	0.0	0.4
24:0	0.0	0.0	0.0	0.3
Σ SFA	47.2	63.7	40.6	44.8
14:1	0.0	0.1	0.1	0.06
15:1	0.0	0.1	1.0	0.4
16:1n7	5.4	1.5	6.5	5.9
18:1n9	12.3	18.1	24.2	29.7
20:1	2.2	1.1	0.3	0.1
Σ MUFA	20.0	21.1	32.3	36.2
18:2n6	2.4	0.7	0.9	0.4
18:3n3	0.0	0.4	0.0	0.3
18:3n6	0.0	0.0	0.0	0.0
20:3n3	0.0	0.0	0.0	0.0
20:4n6 (ARA)	2.7	5.1	2.3	3.0
20:5n3 (EPA)	2.9	1.2	6.2	2.2
22:4n6	2.0	0.8	0.0	0.6
22:6n3 (DHA)	4.2	3.4	10.4	6.4
Σ PUFA	14.4	11.8	20.0	13.2
Σ NI	0.0	3.3	6.9	5.6
DHA/EPA	1.4	2.9	1.7	2.9

6.2 Bahía de los Ángeles

Se obtuvieron 13 biopsias, debido a que todos fueron machos no fue necesario comparar entre sexos, el rango de tallas fue de 4m a 8.5m. Se obtuvieron 11 arrastres de zooplancton, durante la temporada de junio a noviembre, en el año 2018. Debido a que esta Bahía no cuenta con zonas establecidas para el avistamiento de los tiburones ballena, las biopsias de los tiburones y los arrastres de zooplancton se tomaron en donde se estaban alimentando, debido a esto tenemos números de arrastres diferentes por cada mes, por lo que no se pudo realizar una comparación entre meses y zonas en esta localidad.

Del organismo varado se obtuvo una muestra de hígado y músculo.

6.2.1 Comparación de ácidos grasos entre el zooplancton y los tiburones.

En la tabla 5, se muestran los perfiles de ácidos grasos del tejido de tiburón ballena y de zooplancton de la localidad de Bahía de Los Ángeles, en el tiburón dominan los MUFA (78.6%) y en zooplancton también (65.6%). Los ácidos grasos con más contribución en el tiburón son el 16:0, 18:0, 18:1n9 y DHA, mientras que en zooplancton fueron el 16:0, 18:0, 18:1n9, EPA y DHA.

Tabla 5. Perfil de ácidos grasos en tejido dérmico de tiburón ballena en Bahía de Los Ángeles (n=13) y zooplancton (n=11). SFA= AG saturados, MUFA= AG monoinsaturados y PUFA= AG poliinsaturados, NI= no identificados. (Media \pm Error Estándar)

Ácido graso	Tiburón ballena		Zooplancton	
12:0	0.4 \pm	0.1	0.0 \pm	0.0
14:0	2.8 \pm	0.1	8.7 \pm	1.1
16:0	29.1 \pm	1.4	26.8 \pm	2.2
17:0	0.8 \pm	0.3	1.0 \pm	0.1
18:0	21.5 \pm	2.0	10.0 \pm	2.5
20:0	1.0 \pm	0.4	0.6 \pm	0.2
22:0	1.0 \pm	0.4	0.0 \pm	0.0
24:0	0.5 \pm	0.1	0.9 \pm	0.1
Σ SFA	57.3 \pm	5.2	48.1 \pm	6.3
14:1	0.2 \pm	0.04	0.3 \pm	0.08
15:1	0.7 \pm	0.07	0.9 \pm	0.2
16:1n7	2.3 \pm	0.3	7.7 \pm	0.8
18:1n9	14.40 \pm	1.7	8.2 \pm	0.9
20:1	2.9 \pm	1.2	0.3 \pm	0.1
24:1	0.1 \pm	0.1	0.0 \pm	0.0
Σ MUFA	78.6 \pm	9.	65.6 \pm	8.5
18:2n6	2.2 \pm	0.4	1.3 \pm	0.2
18:3n3	0.1 \pm	0.1	0.2 \pm	0.08
18:3n6	1.3 \pm	0.5	0.7 \pm	0.1
20:3n3	0.0 \pm	0.0	0.0 \pm	0.0
20:4n6 (ARA)	3.3 \pm	0.6	2.5 \pm	0.5
20:5n3 (EPA)	1.0 \pm	0.2	11.0 \pm	2.0
22:4n6	0.6 \pm	0.3	0.1 \pm	0.06
22:6n3 (DHA)	4.8 \pm	0.5	15.5 \pm	2.1
Σ PUFA	13.6 \pm	3.0	31.6 \pm	5.3
Σ NI	8.2 \pm	2.2	2.7 \pm	1.0
DHA/EPA	4.6		1.4	

Al aplicar el SIMPER, se obtuvo una similitud de 60.2% entre depredador-presa, equivalente a una disimilitud de 39.7%. Los ácidos grasos con mayor contribución a la

diferencia son el 18:0 (21.5%), 16:0 (29.1%), 18:1n9 (14.4%), 20:1n9 (2.9%), ARA (3.3%) y 20:3n6 (1.3%) que son más abundante en el tiburón ballena, mientras que el DHA (15.5%), EPA (11.1%), 14:0 (8.7%) y 16:1n7 (1.7%) son más abundantes en el zooplancton (Figura 14).

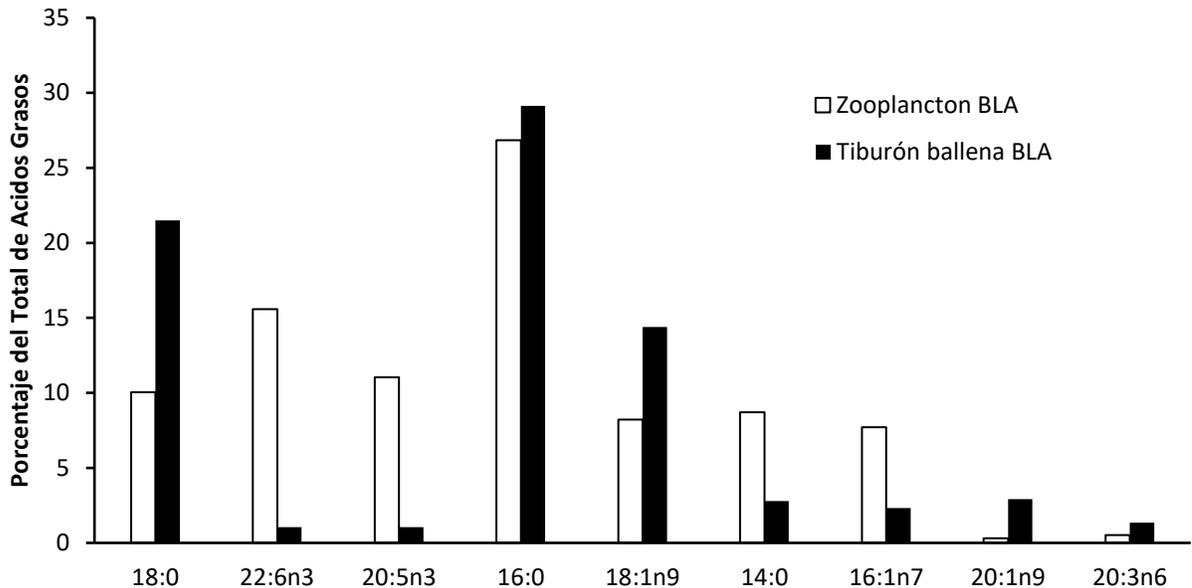


Figura 14. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación entre zooplancton y tiburón ballena en la Bahía de Los Ángeles (BLA). El perfil de AG mostró una disimilitud significativa de 39.7% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,23}=15.41$, $p=0.001$). Límite de contribución acumulativa 90%.

6.2.2 Comparación de ácidos grasos entre tallas.

La clasificación de tamaños de los tiburones fue de 4.0m a 6.0m y de 6.1m a 8.5m (n=4) y 5.0 a 7.0m (n=9) (Figura 15).

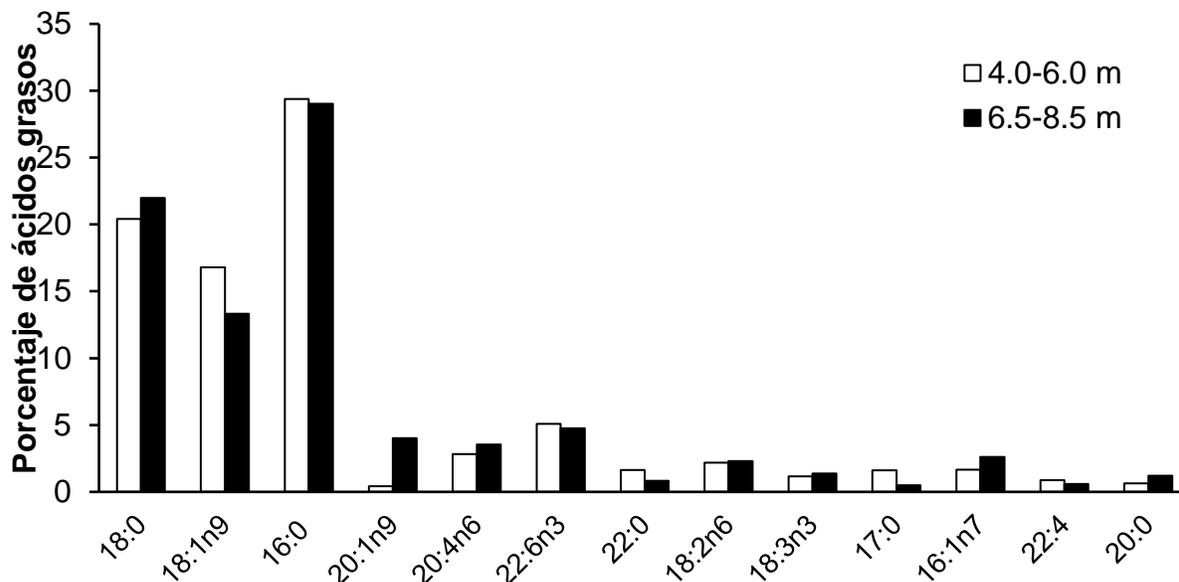


Figura 15. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación entre los tiburones de 4.0-6.0m y de 6.5-8.5m de longitud en Bahía de Los Ángeles (BLA). El perfil de AG mostró una disimilitud del 24.7% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,45}=0.606$, $p=0.682$).

No se encontraron diferencias significativas entre el perfil de ácidos grasos de los grupos de talla seleccionados a pesar de que tuvieron una disimilitud del 24.7% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,45}=0.606$, $p=0.682$). Cabe resaltar que entre las tallas de estos organismos tampoco hubo una gran diferencia en el porcentaje de ácidos grasos, el 16:0 con un porcentaje de 20.4% en el grupo de 4.0-6.0m y de 21.98 en el intervalo de 6.5-8.5m, y el 18:0 con un valor de 29.3% en organismos de 4.0-6.0m y de 29.0% en el grupo de 6.5-8.5m; son los que tuvieron una mayor contribución a esta similitud.

6.2.3 Organismo varado en Bahía de Los Ángeles.

En los perfiles obtenidos en el tiburón varado, los MUFA son predominantes en el hígado. Los ácidos grasos con mayor porcentaje son el 16:0, 16:1n7, 18:1n9. En cuanto a músculo se presentó un mayor porcentaje de 18:1n9 y ARA. Se observó que el ARA domina también en músculo y no solo en el tejido dérmico del tiburón.

Tabla 6. Perfil de ácidos grasos en dos tejidos del tiburón ballena varado en Punta Bufeo, Bahía de los Ángeles. Hígado (n=1), y músculo (n=1). No se presentan medias ni error estándar debido a que solo fue una muestra de cada tejido.

Ácido graso	Hígado	Músculo
12:0	0.08	0
14:0	3.5	0.6
16:0	30.9	9.2
17:0	0.5	0.5
18:0	3.9	5.1
20:0	1.5	4.3
22:0	0.0	0.2
24:0	0.3	0.0
Σ SFA	40.9	20.0
14:1	0.0	0.0
15:1	3.5	0.6
16:1n7	10.7	0.9
18:1n9	30.9	12.7
20:1	0.2	0.0
Σ MUFA	45.5	14.3
18:2n6	1.3	0.4
18:3n3	1.0	0.0
18:3n6	0.4	0.0
20:3n3	0.0	0.0
20:4n6 (ARA)	0.9	23.0
20:5n3 (EPA)	3.3	0.4
22:4n6	0.0	1.0
22:6n3 (DHA)	4.6	2.2
Σ PUFA	11.7	27.2
Σ NI	1.7	38.4
DHA/EPA	1.4	4.9

6.3 Comparación entre Bahía de La Paz y Bahía de los Ángeles

Para realizar la comparación entre las localidades de BLP y BLA de los tiburones ballena y del zooplancton se aplicó un SIMPER que arroja los ácidos grasos que contribuyen a la separación de los grupos (zooplancton BLP, tiburón BLP, zooplancton BLA y tiburón BLA), mientras que el PERMANOVA permite saber si las diferencias (disimilitudes) de los perfiles de ácidos grasos entre los grupos, son significativamente distintas con un $\alpha < 0.05$.

En la figura 16 se muestra la similitud entre el zooplancton de las dos zonas de estudio del 70.8%, equivalente a una disimilitud de 29.2%. Los ácidos grasos que contribuyen a esa disimilitud son el DHA (21.7%), ARA (4.2%), 20:3n3 (3.2%), 18:3n3 (1.9%) que son más abundantes en el zooplancton de BLP; mientras que el zooplancton de BLA tiene una mayor contribución del 16:0 (26.8%), 14:0 (8.7%), 18:1n9 (8.2%) y 16:1n7 (7.7%).

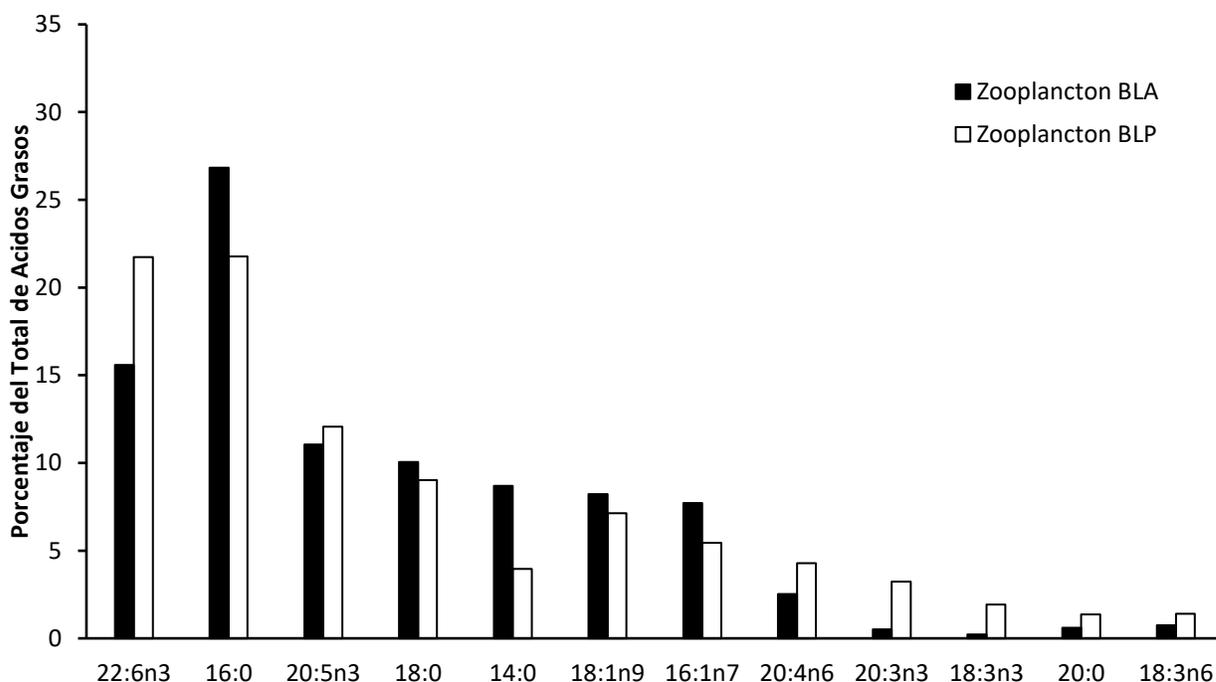


Figura 16. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación del zooplancton entre las áreas de alimentación del tiburón ballena de Bahía de Los Ángeles (BLA) y Bahía de La Paz (BLP) en el Golfo

de California. El perfil de AG mostró una disimilitud significativa de 29.2% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,34}=3.99$, $p=0.001$). Límite de contribución acumulativa 90%.

En cuanto al perfil de ácidos grasos del tejido dérmico de los tiburones se obtuvo una similitud de 69.8% entre las dos zonas, equivalente a una disimilitud de 30.2%. Los ácidos grasos que contribuyen a la separación son el 16:0(29.1%), DHA (4.8%), 20:1n9 (2.9%) en los tiburones presentes en BLA; mientras que en BLP, se encontró un mayor porcentaje de ARA (11.7%), 20:3n3 (4.6%), 18:3n6 (2.6%), 22:4n6 (2.5%).

En cuanto a los demás ácidos grasos encontrados, se presentaron con diferencia mínima entre las dos zonas de estudio. Una diferencia muy importante, es que los organismos presentes en BLA contienen una mayor cantidad de DHA, comparando con BLP y con los estudios previos (Figura 17).

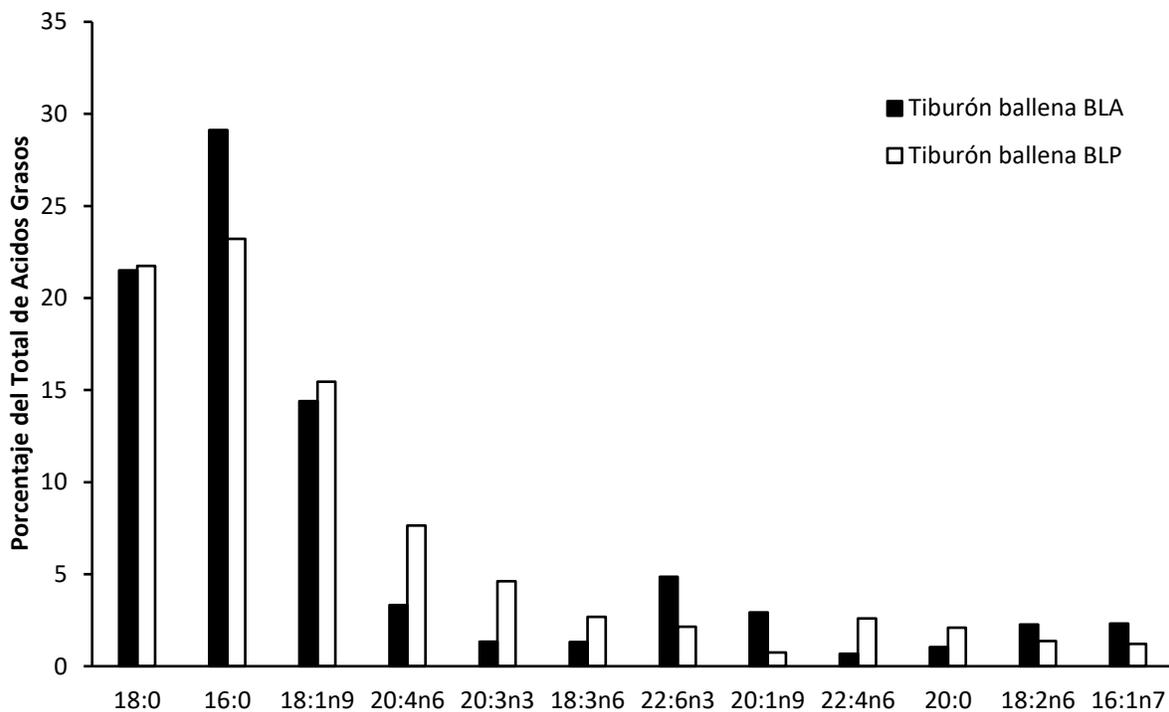


Figura 17. Porcentaje promedio de los ácidos grasos (AG) que contribuyen principalmente a la discriminación del tiburón ballena entre las áreas de alimentación de Bahía de Los Ángeles (BLA) y Bahía de La Paz (BLP) en el Golfo de California. El perfil de AG mostró una disimilitud significativa de 30.1% (PERMANOVA Pseudo $F_{1,34}=5.13$, $p=0.001$). Límite de contribución acumulativa 90%.

6.4 Identificación de tiburones.

Se pudieron identificar el 80% de los organismos, debido a que algunas de las fotos que se capturaron no tenían la calidad suficiente ya que el agua se encontraba turbia. Sin embargo, con estos organismos identificados se pudo observar que ningún tiburón compartió las dos zonas.

6.5 Densidad de energía.

Se obtuvo una fracción lipídica mayor en los organismos de BLA (19.2 lípidos mg g⁻¹ peso seco) al igual que una mayor densidad de energía con 4.7 ED kJ g⁻¹ peso seco.

Tabla 7. Fracción lipídica en tejido dérmico de los tiburones, en las dos localidades de estudio. ps= peso seco, ph= peso húmedo. Medias \pm intervalo de confianza al 95%.

	Bahía La Paz	Bahía de Los Ángeles
Lípidos ps mg g ⁻¹	6.3 \pm 2.3	19.2 \pm 8.3
Lípidos ps (%)	0.6 \pm 0.2	1.9 \pm 0.8
Lípidos ph mg g ⁻¹	1.2 \pm 0.4	4.4 \pm 1.9
Lípidos ph (%)	0.1 \pm 0.04	0.4 \pm 0.2

Se observó que los organismos con mayor densidad de energía fueron los de Bahía de los Ángeles teniendo una diferencia de 0.9 kJ g⁻¹ con los de Bahía de La Paz. Siendo significativamente diferentes de acuerdo a los intervalos de confianza calculados, lo que sugiere que tienen una mejor condición nutricional.

Tabla 8. Densidad de energía en tejido dérmico de los tiburones ballena. Medias \pm intervalo de confianza al 95%.

Localidad	ED (kJ g ⁻¹ ph)	ED (kJ g ⁻¹ ps)
Bahía de La Paz	0.8 \pm 0.2	3.8 \pm 0.4
Bahía de Los Ángeles	1.1 \pm 0.1	4.7 \pm 0.3

7. Discusión

7.1 Ácidos grasos en cada zona de estudio

Desafortunadamente no se pudo separar suficiente cantidad de muestra de cada uno de los grupos del zooplancton para analizar su perfil de manera independiente. Sin embargo, los ácidos grasos predominantes en el zooplancton de las dos Bahías del Golfo de California como el 16:0 coinciden con los AG más abundante en peces, larvas y huevos de estos. El 18:0, 18:1n9 y el EPA también se han encontrado en quetognatos y el DHA es de los más abundantes en cladóceros y copépodos (Parrish *et al.*, 2000; Persson & Vrede., 2006). En particular en BLP se ha reportado con experimentos de alimentación de copépodos con diatomeas y dinoflagelados que el DHA aumenta por el consumo de dinoflagelados en el copépodo *Centropages furcatus* (Band-Schmidth *et al.*,2009).

7.2 Ácidos grasos en cada tejido de tiburón ballena

La talla y el sexo de los organismos colectados en BLP y BLA no tuvieron una diferencia significativa en el perfil de ácidos grasos, coincidiendo con lo ya reportado para esta especie (Rohner *et al.*, 2013; Couturier *et al.*, 2013a; Cárdenas-Palomo *et al.*, 2018; Marcus *et al.*, 2016), razón por la que se analizaron como un solo grupo.

Los perfiles de AG pueden variar, dependiendo el tipo de tejido de los tiburones. En tejidos estructurales como músculo, se tiene una mayor acumulación de grasas saturadas (SFA) y grasas poliinsaturadas (PUFA), mientras que las grasas monoinsaturadas (MUFA) se encuentran en tejidos de almacenamiento de energía, en el hígado (Every *et al.*, 2016).

De acuerdo a los resultados encontrados en los organismos de BLP en contenido estomacal, sangre, hígado, músculo y tejido dérmico, los valores fueron: de SFA (47.2%, 63.7%, 40.6%, 44.8%, 52.8%), MUFA (20.0%, 21.13%, 32.3%, 36.2%, 18.1%) y PUFA (14.4%, 11.8%, 20%, 13.2%, 23.0%). Mientras que en BLA los porcentajes en hígado, músculo y tejido dérmico de SFA fueron de (40.9%, 20%, 57.3%), MUFA (45.5%, 14.3%, 78.6%) y PUFA (11.7%, 27.2%, 13.6%) respectivamente. De acuerdo

a Every *et al.*, (2016), y con los resultados obtenidos, podemos inferir que el tejido dérmico al tener un mayor porcentaje de SFA en los organismos y unos niveles de MUFA altos o muy similares a los del hígado, podría funcionar como un tejido de almacenamiento de energía.

En el presente estudio los tiburones ballena de BLP tuvieron 1.2 mg g^{-1} de peso húmedo (ph) o 6.3 mg g^{-1} de peso seco (ps) de lípidos totales y en BLA 4.4 mg g^{-1} ph o 19.2 mg g^{-1} ps, siendo considerablemente más altos en BLA, lo que podría indicar que las zonas de alimentación de tiburón ballena son muy variables y por lo tanto se refleja su condición nutricional. Contrario a estos valores, el contenido de lípidos fue bajo en el tejido dérmico de los organismos de esta especie (4.0 mg g^{-1} dm o 0.4 mg g^{-1} wm) en Australia, (Marcus *et al.*, 2016), sugiriendo que este tejido no tiene una función de almacenamiento de lípidos. Además, Ronher *et al.*, 2013 en Mozambique y sur de África, reporta 1.8 mg g^{-1} de lípidos en el mismo tejido de tiburón ballena.

Los porcentajes de los AG esenciales también pueden ser diferentes, debido a los requerimientos metabólicos de los organismos. En cuanto haya un requerimiento inmediato los ácidos grasos provenientes de la dieta son transportados a tejidos musculares; y en periodos de baja demanda los AG se almacenan en el hígado (Beckmann, *et al.*, 2013). Estos resultados permiten explicar los diferentes porcentajes en los tejidos de los organismos varados y las biopsias, en BLP en hígado, músculo y tejido dérmico el ARA aumentó su proporción (2.3%, 3%, 7.8%), mientras que el EPA disminuyó (6.2%, 2.2%, 0.8%), lo mismo que el DHA (10.4%, 6.4%, 2%). En BLA se observó una tendencia similar con valores en hígado, músculo y tejido dérmico de ARA (0.9%, 23%, 3.3%), sin embargo, el ARA fue muy alto en el músculo, y dado que solo fue una muestra se tiene que tomar con cautela. El EPA también disminuyó del hígado al músculo y el tejido dérmico (3.3%, 0.4%, 1%). El DHA bajó ligeramente del hígado al músculo (4.6% a 2.2%) pero fue similar en el tejido dérmico (4.8%). Los valores obtenidos en los diferentes tejidos sugieren diferencias en los requerimientos metabólicos de estos tiburones. Por ejemplo, las biopsias de tejido dérmico tienen altos niveles de DHA y ARA que podrían ser utilizados de forma inmediata, mientras que

EPA podría tener menor demanda debido a que solo se encuentra en un nivel alto en hígado.

Con respecto al hígado, al ser un tejido que tiene un depósito de almacenamiento de energía metabólicamente activo, proporciona información de la dieta durante largos periodos de tiempo, ya que es influenciado por la ingesta de AG (Iverson, 2009; Every *et al.*, 2016). Se esperaría que este tejido indique la dieta de los tiburones ballena, principalmente con los porcentajes de los ácidos grasos esenciales. Teniendo resultados de AG de ARA (0.9%), EPA (3.3%) y DHA (4.6%) en el organismo de BLA; y de (2.3%), (6.2%) y (10.4%) respectivamente en BLP. Coincidiendo con un alto nivel de DHA que se registró en el zooplancton en BLP (Fig.13) en el presente estudio, lo cual podría indicar que los tiburones se están alimentando principalmente de copépodos que a su vez se alimentaron principalmente de dinoflagelados, como sugiere el estudio realizado con el copépodo *Centropages furcatus* realizado por Band-Schmidth, *et al.*, (2009) en BLP.

Sin embargo, al analizar la sangre del organismo varado en BLP, se obtuvo un mayor porcentaje de ARA (5.1%), lo cual podría reflejar el alimento que fue consumido recientemente, ya que la tasa de recambio suele ser más rápida en la sangre que en otros tejidos. Pero los valores de ARA en el zooplancton fueron más bajos. Cabe resaltar que solo es una muestra por lo que se sugiere que en un estudio próximo se tengan más biopsias de sangre y que puedan reflejar un mejor resultado.

7.3 Estimación de la similitud de ácidos grasos entre depredador y presa

En estudios previos se trabajó con la hipótesis de que el tejido dérmico es representativo del perfil de ácidos grasos del músculo, que a su vez provee información de la dieta (Rohner *et al.*, 2013). En el presente estudio se tuvo la oportunidad de coleccionar contenido estomacal, sangre, hígado y músculo de un organismo varado en BLP e hígado y músculo de un organismo varado en BLA.

Los resultados muestran que los ácidos grasos se incorporan de manera diferencial en los tejidos. La figura 18 muestra la posible ruta de incorporación de acuerdo a los

resultados obtenidos en BLP donde se pudieron analizar el contenido estomacal remanente y la sangre además del hígado y el músculo de un tiburón varado.

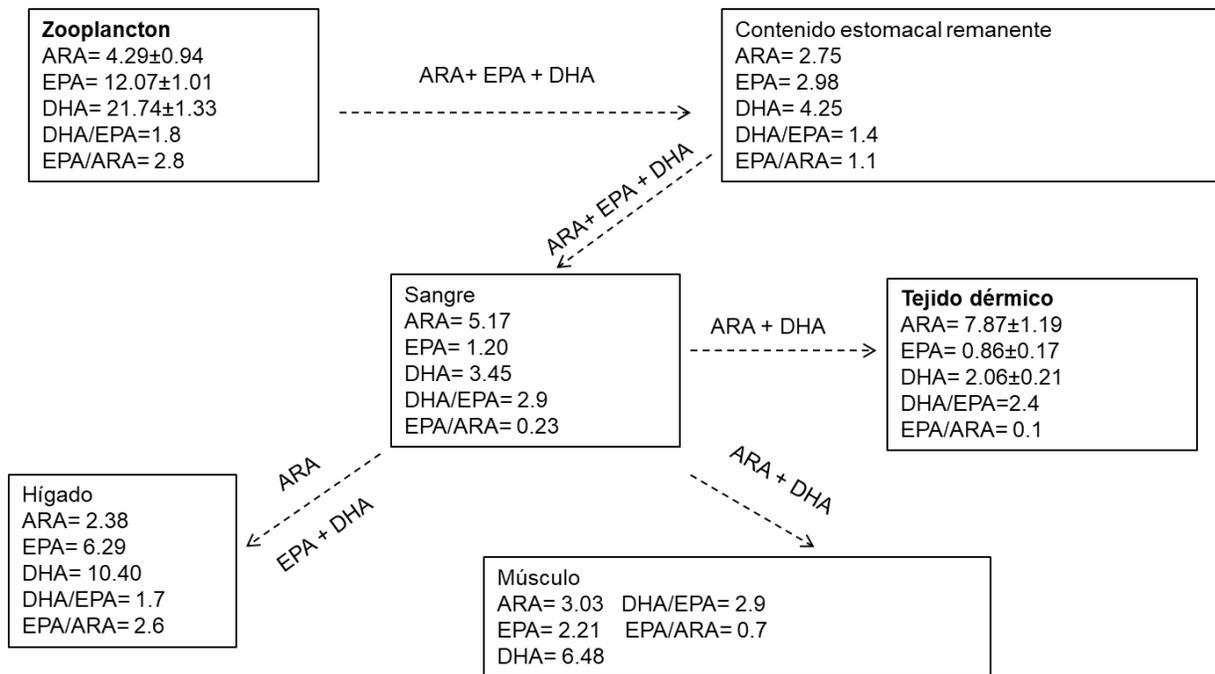


Figura 18. Incorporación diferenciada de los ácidos grasos poliinsaturados esenciales (%) en el tiburón ballena en la Bahía de La Paz. Los cuadros representan los tejidos y las flechas la dirección de la incorporación.

Mientras que en la figura 19 se muestra la posible ruta de incorporación de acuerdo a los resultados obtenidos en BLA donde solamente se pudieron analizar el hígado y el músculo de un tiburón varado.

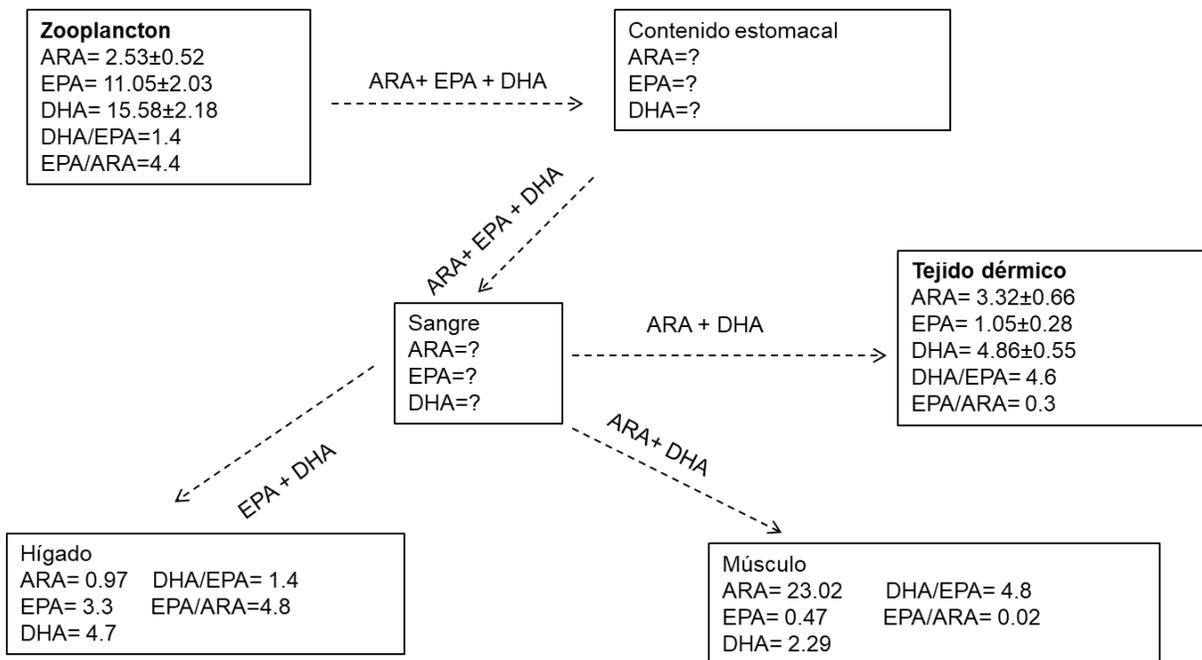


Figura 19. Incorporación diferenciada de los ácidos grasos poliinsaturados esenciales en el tiburón ballena en Bahía de Los Ángeles. Los cuadros representan los tejidos y las flechas la dirección de la incorporación.

Se esperaba encontrar un porcentaje similar en los tejidos de los tiburones; sin embargo, se encontraron valores distintos. En BLP los valores de DHA en el contenido estomacal (4.2%), en sangre (3.4%), en el hígado (10.4%) en músculo (6.4%) y en tejido dérmico (2.0%). El hígado es el tejido que más DHA tiene, pero también que tiene una relación DHA/EPA (1.8) y EPA/ARA (2.8) más parecida al zooplancton de 1.7 y 2.6, respectivamente. Por lo que se propone que el ARA, EPA y DHA que se transportan por la sangre se incorporan al hígado y la disminución de su porcentaje se debe a que el hígado es capaz de sintetizar *de novo* los ácidos grasos saturados y monoinsaturados (Every *et al.*,2016). A diferencia del músculo que tiene una relación DHA/EPA de 2.9, es decir más DHA que EPA y una relación de EPA/ARA de 0.7 lo que indica más ARA que EPA. Implicando que se incorpora menos EPA.

En BLA el DHA presentó un porcentaje menor al del zooplancton con 4.6% en el hígado, 2.2% en músculo y (4.8%) en el tejido dérmico. Desafortunadamente, no se pudieron colectar contenido estomacal ni sangre, sin embargo, también tiene una relación DHA/EPA de 4.8 similar al zooplancton de 4.4. Mientras que la relación DHA/EPA tanto en músculo como en el tejido dérmico fue más alta que en el alimento,

lo que sugiere una acumulación de DHA. La relación de EPA/ARA del hígado fue de 1.4 igual a la del zooplancton. En este caso el músculo presentó un alto porcentaje de ARA y por lo tanto la relación EPA/ARA fue de 0.02 mucho más baja que en BLP.

Dado que solamente fue una muestra de hígado es difícil saber si es consistente. En el caso del tejido dérmico que, si tuvo un número de muestra representativo, la relación EPA/ARA fue de 0.3 en el mismo rango que la de BLP.

La baja relación de EPA/ARA que se detectó en el tejido dérmico implica que este acumula ARA de manera preferencial. Sin embargo, a pesar de lo anterior de acuerdo al SIMPER, el tejido dérmico de los organismos de BLP y el zooplancton, tienen una similitud del 52.7%. Mientras que en BLA la similitud fue mayor 60.2%, eso quiere decir que este tejido dérmico refleja entre el 50 y el 60% de la dieta. Realizando la comparación con cada zona de estudio, se observa que la composición zooplanctónica es diferente en BLP donde dominan copépodos con una proporción del 40.5-53.1% (Whitehead *et al.* Com. Pers., 2019) y en comparación con BLA donde la proporción de copépodos es mayor (45-73.8%) y en menor proporción se encuentran los cladóceros (25-55%) (Hernández-Nava & Álvarez-Borrego, 2013; Lavaniegos *et al.*, 2012). La contribución de los copépodos se refleja en los porcentajes de DHA encontrados en el zooplancton en BLA (15.5%) y BLP (21.7%), coincidiendo con lo reportado en otras zonas donde abundan los copépodos (Parrish *et al.*, 2000). La similitud entre el perfil de ácidos grasos del zooplancton y el tejido dérmico del tiburón ballena en el Golfo de California es mayor a la que se reportó en el sur de Mozambique donde tuvieron 40% de similitud (Rohner *et al.*, 2013) y con eufáusidos de 45% en Australia, pero en el mismo rango de similitud con los misidáceos y anfípodos (56%) y con la mezcla de zooplancton (53%) reportadas en los tiburones ballena de Australia (Marcus *et al.*, 2016).

En cuanto a ARA se tienen altos niveles en el tejido dérmico de los organismos de BLP (7.8%) lo que coincide con los valores de este ácido graso reportados en tiburón ballena colectados en Praia do Tofo en el sureste de Mozambique que fue de 17.8% (Rohner *et al.*, 2013), en el Sur de Mozambique y Australia Oriental de 16.9% (Couturier *et al.*, 2013a), en el Arrecife Ningaloo, Australia Occidental de 12.5% y

16.4% en 2014 y 2015, respectivamente (Marcus *et al.*, 2016) y en la Reserva de la Biosfera del tiburón ballena y la zona de Afuera, en el Caribe Mexicano de 13.2% y 6.8% en 2010 y 2011, respectivamente (Cárdenas-Palomo *et al.*, 2018).

Los autores explican la alta proporción de ARA debido a que los tiburones se alimentan en zonas profundas de zooplancton demersal, teniendo también como referencia en otros estudios que hay organismos mayores a los 4m que se sumergen a profundidades de 200 a 1000m (Graham *et al.*, 2005, Wilson *et al.*, 2006, Brunnschweiler & Sims 2011). Cárdenas-Palomo *et al.*, 2018 en el Caribe Mexicano, indican que el tiburón ballena se alimenta en la superficie, sin embargo, también asocian que los altos niveles de ARA son debido al forrajeo de zooplancton demersal. Ronher *et al.*, (2013) en Australia, apoyan la suposición de que los tiburones ballena, se alimentan de zooplancton en aguas profundas, principalmente de misidáceos, cumáceos y copépodos de más de 200m de profundidad. Sin embargo, ellos lo relacionan con el alto porcentaje de ácidos grasos ramificados (BFA por sus siglas en inglés) que fue significativamente mayor en el tejido dérmico del tiburón en comparación con el zooplancton. Desafortunadamente en este estudio no se cuantificaron los BFA.

Además, (Ronher *et al.*, 2013), en el contenido estomacal de esta especie encontró un 98 a 100% del índice de importancia relativa (IRI) de misidáceos y 66% de sergéstidos. Indicando que los tiburones ballena tienen altos niveles de ARA por el consumo de misidáceos y que además lo realiza de noche, durante la migración vertical de estos organismos. Una marca satelital colocada en una hembra de 6-7m aproximadamente en Mozambique, arrojó resultados donde el tiburón se encuentra en zonas epipelágicas principalmente durante la noche y las meso y batipelágicas durante el día a velocidades similares a las de superficie (Brunnschweiler & Sims, 2011). Por otro lado, en los tiburones del Caribe Mexicano, se ha observado que se alimentan durante el día y que las migraciones a más de 100m las realiza durante la noche (Clark & Nelson, 1997; Graham *et al.*, 2005; Nelson & Eckert, 2007; Motta *et al.*, 2010).

En el presente estudio al obtener los ácidos grasos en el contenido estomacal del organismo varado en BLP se obtuvo 2.7% de ARA siendo un porcentaje bajo

comparándolo con tejido dérmico, sangre y músculo, además de tener un mayor porcentaje de DHA de 4.2%. Este resultado podría ser debido a que el tiburón no se había alimentado recientemente o ya se había digerido el alimento, ya que al filtrarlo se obtuvo muy poco volumen. Este alto nivel de DHA podría indicar que los tiburones ballena se desplazan al Golfo de California a alimentarse de copépodos, ya que el DHA característico de esta presa podría indicar la presencia de la misma en el contenido estomacal del organismo (Parrish *et al.*, 2000).

En Australia y Mozambique, al analizar los ácidos grasos presentes en el zooplancton demersal y epipelágico, se encontró que los que contribuyen más a esta diferencia fueron el DHA con un 22-30% y EPA 7.8%, quedando el ARA como un tercer contribuyente con un valor de 6.4-6.9%. (Couturier *et al.*, 2013b). Lo cual sugiere que la asimilación de este ácido graso puede ser diferente para elasmobranchios o para organismos filtradores, ya que en *Manta alfredi* se presentan valores similares, donde el porcentaje de ARA es mayor con un valor de 8.7 -14.2% que en zooplancton (1.4-2.2%) o que tanto *M. alfredi* como *Rhincodon typus* si se alimentan de zooplancton demersal ya que los niveles de ARA son de (5%) (Couturier *et al.*, 2013b).

Cabe señalar que estos tiburones son una especie altamente migratoria, se ha reportado que los organismos en BLP y BLA permanecen alrededor de 60 días en cada bahía, moviéndose entre estas dos localidades. Alrededor de 26 organismos registraron migración, con 18 individuos que van de BLA a BLP y 4 de BLP a BLA, 3 que hicieron un viaje de retorno de BLP a BLA, regresando a BLP y finalmente 2 tiburones de BLA a BLP, regresando a BLA y quedándose en BLP (Ramírez-Macías *et al.*, 2012). En este estudio se identificaron cerca del 80% de los organismos estudiados y ninguno se repitió entre las dos localidades. Se tuvo una similitud entre los ácidos grasos de los organismos de las dos bahías de 69.83%, sin embargo, algo muy característico de los tiburones presentes en BLA es el porcentaje de DHA (4.9%), el cual es mayor que en BLP (2.1%), Praia de Tofo en Mozambique de 2.8% (Rohner *et al.*, 2013), en Australia Oriental de 2.5% (Couturier *et al.*, 2013a), en el Caribe Mexicano de 2.0% y 1.9% en 2010 y 2011 respectivamente (Cárdenas-Palomo *et al.*,

2018) y en el Arrecife Ningaloo, Australia Occidental de 2.4% y 3.5% en 2014 y 2015, respectivamente (Marcus *et al.*, 2016).

Se tienen definidas dos poblaciones de tiburones ballena con una conectividad mínima entre el Indo-Pacífico y el Océano Atlántico. Siendo además los mismos tiburones del Golfo de California que los que se encuentran en Filipinas y Australia (Ramírez-Macías, 2011; Vignaud *et al.*, 2014). Debido a esto podríamos suponer que además del alimento consumido en la BLP y BLA los tiburones también estarían reflejando la dieta de otros sitios o una combinación de varios sitios en los que se ha encontrado, ya que según los movimientos geográficos que se han registrado en organismos marcados en BLA, indica que los tiburones ballena pueden extenderse hacia el Océano Pacífico Norte (Eckert & Stewart, 2001)

7.4 Densidad de energía en los tiburones ballena

Se obtuvieron valores distintos del cálculo de densidad de energía para las diferentes zonas de estudio. En BLP 0.8 kJ g⁻¹ ph y 3.8 kJ g⁻¹ ps; en BLA 1.1 kJ g⁻¹ ph y 4.7 kJ g⁻¹ ps. Lo que sugiere que los tiburones de Australia tienen una mejor condición nutricional con 18.7 kJ g⁻¹ ps (Marcus *et al.*, 2016), que los organismos del Golfo de California. Esto podría deberse a la diferente composición del zooplancton en cada zona de estudio reportada en los antecedentes y en el presente estudio, así como la disponibilidad de su alimento. Ya que se tiene registro que, en cautiverio en distintos acuarios donde el alimento es racionado, como el de Okinawa Churaumi, se alimenta a un tiburón ballena de 8.4m con una dosis de 50,242-83,736 kJ/día. Mientras que en el acuario de Georgia se le racionan 17,287-31,238 kJ/día a organismos de 5-6m. Sin embargo, la energía por gramo del zooplancton varía de acuerdo a su composición para el zooplancton de la Península de Yucatán, México un valor de energía de 1.3 ± 0.08 kJ / g (peso húmedo) o 12.2 kJ / g (peso seco) (Motta *et al.*, 2010). Y en el caso de la BLP tenemos un valor del copépodo *Pseudodyaptomus euryhalinus* de 9.9 y 16.4 kJ / g (peso seco) en condiciones de cautiverio, el cual es muy similar al valor reportado en la Península de Yucatán (Flores, 2008). Lamentablemente al no tener datos de longitud y peso (Wetherbee & Cortés, 2004) es difícil saber la ración diaria de alimento como en otras especies de tiburones, sin embargo, suponiendo que un tiburón necesita

83,736 kJ/día o 20,013 kCal y un gramo de zooplancton tiene 1.3 kJ / g (peso húmedo), realizando el cálculo de $83,736 / 1.3 = 64,412$ Kg, sería la cantidad de zooplancton que el organismo necesita consumir, así como $83,736 / 12.2 = 6,863$ Kg en peso seco de zooplancton. Estos valores se tienen que tomar con cautela ya que solo es una estimación con base en datos de organismos en cautiverio.

8. Conclusiones

La relación DHA/EPA sugiere que los tiburones ballena se alimentan principalmente de copépodos en Bahía de La Paz y Bahía de Los Ángeles. Por lo tanto, se diferenciaron como presas potenciales de los tiburones ballena a los copépodos.

Los tejidos de tiburón ballena retienen los ácidos grasos según sus requerimientos metabólicos, el tejido dérmico retiene principalmente el ácido araquidónico.

Existe una similitud del 70% en los ácidos grasos de zooplancton entre las dos bahías del Golfo de California analizadas.

El DHA, EPA y ARA, son los ácidos grasos que nos pueden ayudar a discriminar las presas del tiburón ballena.

En el Golfo de California el tejido dérmico de tiburón ballena reflejó el perfil de ácidos grasos del zooplancton. En BLP el 53% de su dieta y en BLA el 60%.

Los tiburones ballena presentes en BLP y BLA no presentan una diferencia significativa en sus perfiles de ácidos grasos.

La densidad de energía del tiburón ballena de BLA es mayor que en BLP sugiriendo que en la BLA los tiburones tienen una mejor condición nutricional que coincide con una mayor proporción de DHA en su tejido dérmico.

9. Recomendaciones

Realizar arrastres de zooplancton demersal y vertical, adicionales a los superficiales y analizar sus ácidos grasos, incorporar los ácidos grasos ramificados al análisis de las biopsias de tejido dérmico del tiburón ballena. Buscar la probabilidad de hacerlos también de noche y corroborar la presencia de tiburón ballena durante la realización de los mismos.

Aumentar el tamaño de muestra de hígado y músculo aprovechando los organismos varados para obtener el mismo número que las de tejido dérmico, para poder realizar la comparación adecuada y determinar con mayor exactitud la ruta de incorporación de los ácidos grasos sugerida en las figuras 18 y 19.

Separar los grupos de zooplancton y realizar los perfiles de ácidos grasos de cada uno de ellos.

Literatura citada

Álvarez-Borrego, S., (1983). Gulf of California. Pp. 427-449. En: *Estuaries and Enclosed Seas* C.B.H. Ketchum (ed.). Elsevier.

Ballantyne, J. S. (2015). Metabolism of elasmobranchs (Jaws II). In *Fish Physiology* (Vol. 34, pp. 395-456). Academic Press.

Band-Schmidt, C. J., R. Pacheco-Chávez, L. Carreón-Palau, J. A. Del Ángel-Rodríguez, S. Hernández-Trujillo. 2009. Effect of Diatom and Dinoflagellate diets on egg production and ingestion rate of *Centropages furcatus* (COPEPODA:CALANOIDA) from a subtropical bay (Bahía de La Paz, Gulf of California). *CICIMAR Oceánides*, 24 (2):71-83.

Buenrostro, A. A., (1991). Modelado numérico de la circulación inducida por el viento en Bahía de Los Ángeles, BC, México. *Ciencias Marinas*, 17(3), 39-57.

Beckmann, C. L., Mitchell, J. G., Seuront, L., Stone, D. A., & Huveneers, C., (2013). Experimental evaluation of fatty acid profiles as a technique to determine dietary composition in benthic elasmobranchs. *Physiological and biochemical zoology*, 86(2), 266-278.

Bligh, E. G., & Dyer, W. J., (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.

Brunnschweiler, J. M., & Sims, D. W., (2011). Diel oscillations in whale shark vertical movements associated with meso-and bathypelagic diving. In *American Fisheries Society Symposium* (Vol. 76, pp. 1-14).

Bustos-Serrano, H., Millan-Nunez, R., & Cajal-Medrano, R., (1996). Tidal effect on organic primary productivity in a coastal lagoon of Ballenas Channel, Gulf of California (in Spanish & English). *Oceanographic Literature Review*, 12(43), 1239.

Cárdenas-Palomo, N., Noreña-Barroso, E., Herrera-Silveira, J., Galván-Magaña, F., & Hacohe-Domené, A., (2018). Feeding habits of the whale shark (*Rhincodon typus*)

inferred by fatty acid profiles in the northern Mexican Caribbean. *Environmental Biology of Fishes*, 101(11), 1599-1612.

Carreón-Palau, L., Parrish, C. C., del Angel-Rodríguez, J. A., Pérez-Espana, H., & Aguiñiga-García, S., (2013). Revealing organic carbon sources fueling a coral reef food web in the Gulf of Mexico using stable isotopes and fatty acids. *Limnology and Oceanography*, 58(2), 593-612.

Chen, C. T., Liu, K. M., & Joung, S. J., (2002). Preliminary report on Taiwan's whale shark fishery. In *Elasmobranch Biodiversity, Conservation and Management: Proceedings of the International Seminar and Workshop, Sabah, Malaysia, July 1997* (pp. 162-167). IUCN Gland, Switzerland.

Clark, E., & Nelson, D. R., (1997). Young whale sharks, *Rhincodon typus*, feeding on a copepod bloom near La Paz, Mexico. *Environmental Biology of Fishes*, 50(1), 63-73.

Colman, J. G., (1997). A review of the biology and ecology of the whale shark. *Journal of Fish Biology*, 51(6), 1219-1234.

Compagno, L. J. V., (1984). FAO Species Catalogue. Vol. 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 1: Hexanchiformes to Lamniformes. *FAO Fish. Synop*, 125, 1-249.

Compagno, L. J., (2001). Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date, vol 2. Bullhead, mackerel and carpet sharks (Heterodontiformes, Lamniformes and Orectolobiformes). *FAO species catalogue for fishery purposes*, 1, viii+-1.

Couturier L.I.E., Rohner C.A., Richardson A.J., Pierce S.J., Marshall, A.D., Jaime, F.R.A., Townsend, K.A., Bennett, M.B., Weeks, S.J. y Nichols, P.D., (2013a). Unusually high levels of n-6 poly -unsaturated fatty acids in whale sharks and reef manta rays. *Lipids* 48:1029–1034"

Couturier, L. I., Rohner, C. A., Richardson, A. J., Marshall, A. D., Jaime, F. R., Bennett, M. B., ... & Nichols, P. D., (2013b). Stable isotope and signature fatty acid analyses suggest reef manta rays feed on demersal zooplankton. *PLoS One*, 8(10), e77152.

Delgadillo-Hinojosa, F., Gaxiola-Castro, G., Segovia-Zavala, J. A., Muñoz-Barbosa, A., & Orozco-Borbón, M. V., (1997). The effect of vertical mixing on primary production in a bay of the Gulf of California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 45(1), 135-148.

De Silva-Dávila, R., (1997). *Abundancia y distribución de los eufaúsidos y producción larvaria de Nyctiphanes simplex Hansen, en la Bahía de La Paz, BCS, México* (Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas).

De Silva-Dávila, R., & Palomares-García, R. (2002). Distributional patterns of the euphausiid community in Bahía de La Paz, BCS, México. *Contributions to the study of the East Pacific crustaceans. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF*, 109-125.

Duffy, A. J., (2002). Distribution, seasonality, lengths, and feeding behaviour of whale sharks (*Rhincodon typus*) observed in New Zealand waters. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 36, 565-570.

Eckert, S. A., & Stewart, B. S., (2001). Telemetry and satellite tracking of whale sharks, *Rhincodon typus*, in the Sea of Cortez, Mexico, and the north Pacific Ocean. In *The behavior and sensory biology of elasmobranch fishes: an anthology in memory of Donald Richard Nelson* (pp. 299-308). Springer, Dordrecht.

Every, S. L., Pethybridge, H. R., Crook, D. A., Kyne, P. M., & Fulton, C. J., (2016). Comparison of fin and muscle tissues for analysis of signature fatty acids in tropical euryhaline sharks. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 479, 46-53.

Flores Santana, R. E., (2008). Variación en el contenido de ácidos grasos del copépodo calanoide *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson, 1939) alimentado con las microalgas *Chaetoceros calcitrans* e *Isochrysis galbana*.

Folch J. Less M, Sloane-Stanley GH (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-509.

Graham, R. T., Roberts, C. M., & Smart, J. C., (2005). Diving behaviour of whale sharks in relation to a predictable food pulse. *Journal of the Royal Society Interface*, 3(6), 109-116.

González, H., González, J., Murillo R., (2010). Propuesta de plan de manejo para realizar aprovechamiento no extractivo de tiburón ballena (*Rhincodon typus*) en el estado de Nayarit.

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

Hernández-Nava, M. F., & Álvarez-Borrego, S., (2013). Zooplankton in a whale shark (*Rhincodon typus*) feeding area of Bahía de los Ángeles (Gulf of California). *Hidrobiológica*, 23(2), 198-208.

Heyman, W. D., Graham, R. T., Kjerfve, B., & Johannes, R. E., (2001). Whale sharks *Rhincodon typus* aggregate to feed on fish spawn in Belize. *Marine Ecology Progress Series*, 215, 275-282.

Iverson, S. J., (2009). Tracing aquatic food webs using fatty acids: from qualitative indicators to quantitative determination. In *Lipids in aquatic ecosystems* (pp. 281-308). Springer, New York, NY.

Jaramillo, A., (2009). Estudio de la biología trófica de cinco especies de peces bentónicos de la costa de Cullera (Doctoral dissertation, Tesis de doctorado. Valencia, España. Universidad politécnica de valencia).

Jiménez-Illescas, A. R., Obeso-Nieblas, M., Alatorre-Mendieta, M. A., Troyo-Diequez, S., y García-Escobar, H., (1994). Hidrología de la Bahía de La Paz. *Oceanología*, 1(2), 115-131.

Ketchum, M.J., (2003). *Distribución espacio-temporal y ecología alimentaria del tiburón ballena (Rhincodon typus) en la Bahía de la Paz y zonas adyacentes en el suroeste del Golfo de California*. Maestría en Manejo de Recursos Marinos Thesis, Instituto

Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas., La Paz, B.C.S., México, iv, 91 h.

Last, P. R., & Stevens, J. D., (1994). Sharks and rays of australia csiro. *Melbourne, Australia*.

Lavaniegos, B. E., & González-Navarro, E., (1999). Grupos principales del zooplancton durante El Niño 1992-93 en el Canal de San Lorenzo, Golfo de California. *Revista de biología tropical*, 129-140.

Lavaniegos, B. E., Heckel, G., & Ladrón de Guevara, P., (2012). Variabilidad estacional de copépodos y cladóceros de bahía de los Ángeles (golfo de California) e importancia de *Acartia clausi* como alimento del tiburón ballena. *Ciencias marinas*, 38(1A), 11-30.

López-Peralta, R. H., & Arcila, C. A. T., (2002). Diet composition of fish species from the southern continental shelf of Colombia. *Naga, WorldFish Center Quarterly*, 25(3-4), 23-29.

Nelson, J. D., & Eckert, S. A., (2007). Foraging ecology of whale sharks (*Rhincodon typus*) within Bahía de los Angeles, Baja California Norte, Mexico. *Fisheries Research*, 84(1), 47-64.

Marcus, L., Virtue, P., Pethybridge, H. R., Meekan, M. G., Thums, M., & Nichols, P. D., (2016). Intraspecific variability in diet and implied foraging ranges of whale sharks at Ningaloo Reef, Western Australia, from signature fatty acid analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 554, 115-128.

Morrison W. R. & Smith L. M., (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res* 5:600-608.

Motta, P. J., Maslanka, M., Hueter, R. E., Davis, R. L., De la Parra, R., Mulvany, S. L., ... & Tyminski, J. P. (2010). Feeding anatomy, filter-feeding rate, and diet of whale sharks *Rhincodon typus* during surface ram filter feeding off the Yucatan Peninsula, Mexico. *Zoology*, 113(4), 199-212.

Murillo-Jiménez, J., (1987). Algunas características paleoceanográficas y cuerpos de agua inferidos a partir del registro paleontológico (Radiolaria) en la Bahía de La Paz, B. C. S., México. Tesis de Licenciatura. U.A.B.C.S., México, 70 pp.

Obeso- Nieblas, M., Shirasago, B., Sánchez-Velasco, L., Gaviño-Rodríguez, J.H., (2004). Variabilidad hidrográfica en bahía de La Paz, Golfo de California, México (1995-2005). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(3):559-567.

Parrish, C. C., Abrajano, T. A., Budge, S. M., Helleur, R. J., Hudson, E. D., Pulchan, K., & Ramos, C., (2000). Lipid and phenolic biomarkers in marine ecosystems: analysis and applications. In *Marine chemistry* (pp. 193-223). Springer, Berlin, Heidelberg.

Parrish, C. C., Nichols, P. D., Pethybridge, H., & Young, J. W., (2015). Direct determination of fatty acids in fish tissues: quantifying top predator trophic connections. *Oecologia*, 177(1), 85-95.

Persson, J., & Vrede, T., (2006). Polyunsaturated fatty acids in zooplankton: variation due to taxonomy and trophic position. *Freshwater Biology*, 51(5), 887-900.

Pethybridge, H. R., Parrish, C. C., Bruce, B. D., Young, J. W., & Nichols, P. D., (2014). Lipid, fatty acid and energy density profiles of white sharks: insights into the feeding ecology and ecophysiology of a complex top predator. *PloS one*, 9(5), e97877.

Pierce, S. J., & Norman, B., (2016). *Rhincodon typus*. *The IUCN red list of threatened species*, e-T19488A2365291.

Ramírez Macías, D., (2011). Estructura genética del tiburón ballena (*Rhincodon typus*) a escala global (Pacífico, Indico y Atlántico) y estimación de abundancia en Isla Holbox y el Golfo de California.

Ramírez-Macías, D., Vázquez-Haikin, A., & Vázquez-Juárez, R., (2012). Whale shark *Rhincodon typus* populations along the west coast of the Gulf of California and implications for management. *Endangered Species Research*, 18(2), 115-128.

Sanchez-Velasco, L., Beier, E., Avalos-Garcia, C & Lavin, M.F. 2006. Larval fish assemblages and geostrophic circulation in Bahía de La Paz and the surrounding

southwestern region of the Gulf of California, *Journal of Plankton Research*, 28(11), 1-18.

Rohner, C. A., Couturier L.I., Richardson, A.J., Pierce, S.J., Prebble C.E., Gibbons, M.J. y Nichols, P.D., (2013). Diet of whale sharks *Rhincodon typus* inferred from stomach content and signature fatty acid analyses. *Marine Ecology Progress Series* 493, 219–235.

Sato, N., & Murata, N. (1988). [24] Membrane lipids. In *Methods in enzymology* (Vol. 167, pp. 251-259). Academic Press.

Schmidt-Nielsen, K., (1997). *Animal physiology: adaptation and environment*, 5th edn. Cambridge University Press, New York, NY. Disponible en: <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Af7lwQWJoCMC&oi=fnd&pg=PR7&ots=T-l1SyZtCi&sig=bPuDhLWzml9k3j01H00lp6w5kKo#v=onepage&q&f=false>

Taylor, J.G., (1994). *Whale Sharks, the Gentle Giants of Ningaloo Reef*. Angus and Robertson, Sydney.

Taylor, J. G., (1996). Seasonal occurrence, distribution and movements of the whale shark, *Rhincodon typus*, at Ningaloo Reef, Western Australia. *Marine and Freshwater Research*, 47(4), 637-642.

Taylor, J. G., & Pearce, A. F., (1999). Ningaloo Reef currents: implications for coral spawn dispersal, zooplankton and whale shark abundance. *Journal of the Royal Society of Western Australia*, 82(2), 57-65.

Tripp-Valdez, A., (2010). Comparación de dos enfoques metodológicos para el análisis de la estructura trófica de la ictiofauna de fondos blandos de las costas de Nayarit, México. Doctorado en Ciencias Marinas Tesis, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B. C. S., México, 131 h.

Vignaud, T. M., Maynard, J. A., Leblois, R., Meekan, M. G., Vázquez-Juárez, R., Ramírez-Macías, D., ... & Baksay, S., (2014). Genetic structure of populations of whale sharks among ocean basins and evidence for their historic rise and recent decline. *Molecular ecology*, 23(10), 2590-2601.

Wetherbee, B. M., & Cortés, E., (2004). Food consumption and feeding habits. In *Biology of Sharks and their Relatives* (pp. 232-253). CRC press.

Wilson, S. G., & Newbound, D. R., (2001). Two whale shark faecal samples from Ningaloo Reef, Western Australia. *Bulletin of Marine Science*, 68(2), 361-362.

Wilson, S. G., Pauly, T., & Meekan, M. G., (2001). Daytime surface swarming by *Pseudeuphausia latifrons* (Crustacea, Euphausiacea) off Ningaloo Reef, Western Australia. *Bulletin of Marine Science*, 68(1), 157-162.

Wilson, S. G., Polovina, J. J., Stewart, B. S., & Meekan, M. G., (2006). Movements of whale sharks (*Rhincodon typus*) tagged at Ningaloo Reef, Western Australia. *Marine Biology*, 148(5), 1157-1166.