

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO**

**FACULTAD DE ACUICULTURA Y CIENCIAS VETERINARIAS**

**ESCUELA DE ACUICULTURA**

---



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA COMPOSICIÓN DE  
ÁCIDOS GRASOS EN MÚSCULO Y GÓNADA DE HEMBRAS SILVESTRES Y  
DE CULTIVO DE *Galaxias maculatus* (Jenys, 1842), CON RELACIÓN A LA  
BAJA O ALTA FERTILIDAD.**

Tesis de Grado presentada como parte de  
los requisitos para optar al grado de  
Licenciado en Ciencias de la Acuicultura

Alumno: Alejandro Guerrero Esparza  
Profesor Guía: Patricio Dantagnan Dantagnan

**Temuco  
Chile  
2003**

## **RESUMEN**

*Galaxias maculatus* es un pequeño pez salmoniforme, perteneciente a la familia *Galaxiidae*, habita en aguas templadas – frías, dulces y estuarinas. La importancia comercial del puye, se debe principalmente a su alto valor comercial que alcanza en los mercados en su estado de post larva cristalina, lo que ha producido una drástica disminución de las poblaciones debido a los intensos niveles de captura. Por otro lado, se han iniciado una serie de investigaciones con el propósito de desarrollar el cultivo de esta especie. Dentro de la biología del puye, la reproducción es una de las etapas fundamentales para mantener el cultivo de esta especie.

El presente estudio pretende establecer la composición de ácidos grasos en músculo y gónadas en hembras de puye de tres poblaciones distintas, y ver si existe relación con la alta y baja fertilidad que estas puedan presentar. La población silvestre proviene de la localidad de Hornopirén, mientras que la poblaciones F1 (primera generación en cautiverio) y F2 (segunda generación en cautiverio) provienen del hatchery de la Universidad Católica de Temuco. Los resultados muestran que los ácidos grasos saturados (SAFA) son los de mayor predominancia, en músculo y gónadas de hembras de alta y baja fertilidad de los tres tipos de poblaciones. Dentro de los SAFA, el ácido graso que presentó mayor porcentaje de área fue el Palmítico (16:0). Para los MUFA el ácido graso que presentó mayores porcentajes de área fue el ácido Oléico, mientras que para los PUFA el ácido Docosahexaenoico es el que registró mayores porcentajes de área. Los distintos ácidos grasos presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las distintas poblaciones y, entre baja y alta fertilidad para una misma población, pero la mayoría de los ácidos grasos no sufren cambios drásticos en sus porcentajes, lo que hace presumir que los porcentajes de fertilidad en esta especie están influenciados por otros factores.

Palabras claves: *Galaxias maculatus*, ácidos grasos, fertilidad, músculo, gónadas.

## **ABSTRACT**

*Galaxias maculatus* are a small fish salmoniforme, belonging to the family Galaxiidae, inhabits temperate waters - cold, freshwater and estuarines. The commercial importance of the puye, owes you mainly to its high commercial value that reaches in the markets in its state of post crystalline larva, what has produced a drastic decrease of the populations due to the intense capture levels. On the other hand, they have begun a series of investigations with the purpose of developing the cultivation of this species. Inside the biology of the puye, the reproduction is one of the fundamental stages to maintain the cultivation of this species.

The present study seeks to establish the composition of fatty acids in muscle and gonads in females of three different population's puye, and to see if relationship exists with the discharge and low fertility that these they can present. The wild population comes from the town of Hornopirén, while the populations F1 (first generation in captivity) and F2 (second generation in captivity) they come from the hatchery of the Catholic University of Temuco. The results show that the saturated fatty acids (SAFA) they are those of more predominance, in muscle and gonads of females of high and low fertility of the three types of populations. Inside the SAFA, the fatty acid that presented bigger area percentage was the Palmitic (16:0). For the MUFA the fatty acid that presented bigger area percentages was the sour Oleic, while for the PUFA the sour Docosahexaenoic is the one that registered bigger area percentages. The different fatty acids presented significant differences ( $P < 0.05$ ) among the different populations and, among low and high fertility for oneself population, but most of the fatty acids don't suffer drastic changes in their percentages, that makes show off that the percentages of fertility in this species are influenced by other factors.

Key words: *Galaxias maculatus*, fatty acids, fertility, muscle, gonads.

## ÍNDICE.

I. INTRODUCCIÓN	Pág. 1
II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	Pág. 3
2.1. Identificación y Distribución de la Especie.	Pág. 3
2.2. Descripción de la Especie.	Pág. 4
2.3. Importancia de la Calidad de Gametos en Peces.	Pág. 4
2.4. Importancia de los Ácidos Grasos.	Pág. 6
2.5. Importancia de la Nutrición en los Reproductores de Peces.	Pág. 8
III. OBJETIVOS	Pág. 13
3.1. Objetivos Generales.	Pág. 13
3.2. Objetivos Específicos.	Pág. 13
IV. PLANTEAMIENTO DE LAS HIPÓTESIS	Pág. 14
V. MATERIALES Y MÉTODOS	Pág. 15
5.1. Obtención de la Muestras.	Pág. 15
5.2. Determinación de la Fertilidad.	Pág. 16
5.3. Separación de Gónadas y Músculo.	Pág. 17
5.4. Análisis Bioquímico.	Pág. 18
5.4.1. Extracción de lípidos.	Pág. 18
5.4.2. Separación de lípidos neutros y polares.	Pág. 19
5.4.3. Determinación de ácidos grasos.	Pág. 19
5.5. Análisis estadístico.	Pág. 20

VI. RESULTADOS.	Pág. 21
6.1. Lípidos en Músculo.	Pág. 21
6.1.1. Comparación de Lípidos Neutros en Músculo.	Pág. 21
6.1.2. Comparación de Lípidos Polares en Músculo.	Pág. 26
6.2. Lípidos en Gónadas.	Pág. 32
6.2.1. Comparación de Lípidos Neutros en Gónadas.	Pág. 32
6.2.2. Comparación de Lípidos Polares en Gónadas.	Pág. 36
VII. DISCUSIÓN	Pág. 41
VIII. CONCLUSIONES.	Pág. 48
IX. BIBLIOGRAFÍA.	Pág. 49

## I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es la producción, procesamiento y venta de organismos biológicos de un sistema acuático y ha existido por varios milenios, aunque es un campo relativamente nuevo para el público en general. Las milenarias culturas de China, Japón y otras regiones del lejano Oriente han practicado la acuicultura durante siglos (Wheaton, 1993).

La acuicultura se ha ido desarrollando a través del tiempo y de manera muy vertiginosa durante los últimos veinte años, como consecuencia del menor rendimiento de las capturas naturales y a una mayor demanda de alimento por el crecimiento de la población mundial, facilitando el gran auge de la acuicultura nacional. El crecimiento de la acuicultura ha incrementado el cultivo de nuevas especies, en Chile se realizan numerosos estudios tendientes a diversificar los cultivos acuáticos, tanto con especies exóticas como autóctonas de alto valor comercial. Dentro de las especies autóctonas con mayores perspectivas en la acuicultura nacional se encuentra el Puye (*Galaxias maculatus*) debido al alto valor comercial que alcanza en el mercado (Aquanoticias, 1999).

La pesquería del recurso Puye en las últimas décadas ha disminuido bastante. Chile capturaba en 1990 alrededor de 15 toneladas al año, esta cifra ha descendido progresivamente hasta menos de 10 toneladas en la actualidad

(Aquanoticias, 1999). Por otro lado, los precios que alcanza este recurso no dejan de ser atractivos, ya que el kilo de puye fresco varía entre \$19.000 y \$21.000 en los mercados de Chile (Aquanoticias, 1999).

Aparentemente el contenido de lípidos en los peces tiene relación con las condiciones ambientales de cultivo para los reproductores, como la temperatura (Corraze *et al.*, 1991) y fotoperiodo (Devauchelle *et al.*, 1982), y la dieta de los reproductores (Washburn *et al.*, 1990; Corraze *et al.*, 1991; Dhert *et al.*, 1991; Parrish *et al.*, 1995; De Silva *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1997; Carrillo *et al.*, 1999). El efecto de los factores ambientales, incluidas las condiciones de alimentación, sobre la reproducción puede ejercerse a diferentes niveles y en distintos momentos. Pueden afectar, por ejemplo, a todos los procesos hormonales que regulan el desarrollo gonadal, o bien, una influencia directa sobre el mismo desarrollo gonadal o incluso, a posteriori, sobre el desarrollo de huevos y larvas (Navas, 1997).

Diversos son los trabajos tendientes a investigar el efecto de los ácidos grasos en distintas especies de peces y en los procesos reproductivos (Dhert *et al.*, 1991; Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Navas *et al.*, 1997; Czesney *et al.*, 2000; Furuita *et al.*, 2000; Ibeas *et al.*, 2000; Izquierdo *et al.*, 2000). La presente investigación tiene por objeto conocer los perfiles de ácidos grasos en hembras reproductoras de *Galaxias maculatus* y establecer el efecto que ejercen sobre la fertilidad de estas.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

### 2.1. Identificación y Distribución de la Especie.

*Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) es un pequeño pez salmoniforme, perteneciente a la familia *Galaxiidae*, habita en aguas templadas – frías, dulces y estuarinas. Su nombre común es “puye” y sus símiles son *Galaxias variegatus* y *Galaxias attenuatus* (Campos, 1970). Su distribución geográfica está circunscrita en los extremos del Hemisferio Sur: Australia, Nueva Zelanda, Tasmania, Península del Cabo en Sudáfrica y Cono Sur de Sudamérica en Argentina y Chile. En Chile, se distribuye desde la Zona Central (32° Lat. Sur) hasta la Patagonia (53° Lat. Sur) (Campos, 1970). Esta especie es pelágica, de lagos y ríos potamales o hyporritrales. Es una especie diadrómica, es decir que puede vivir en aguas salobres, saladas y dulces. En Chile se han registrado dos poblaciones, una diadrómica y otra lacustre (Campos, 1993).

Su clasificación taxonómica según Arratia (1981), es la siguiente:

**Orden: *Salmoniforme***

**Suborden: *Galaxioide***

**Familia: *Galaxiidae***

**Género: *Galaxias***

**Especie: *Galaxias maculatus***

## **2.2. Descripción de la Especie.**

El Puye, es un pequeño pez de cuerpo alargado de sección subcilíndrica y que carece de escamas, es una especie de rápido crecimiento que alcanza una talla promedio de 7 centímetros en estado adulto. Durante los estados de larva y post larva su cuerpo es transparente porque carece de pigmentación. La reproducción se realiza en la época de primavera – verano en las poblaciones de primer invierno. Esta especie, presenta sexos separados en una proporción 1:1. La madurez máxima en machos se reconoce al presionar el abdomen y liberar semen. Las hembras, se reconocen por la transparencia de su abdomen que permite observar los ovocitos y por presentar madurez asincrónica. Los huevos son adhesivos, de 1 mm de diámetro aproximadamente y cada hembra puede producir entre 800 a 1200 huevos al año de edad (Vega *et al.*, 1999).

En acuicultura, la reproducción es uno de los procesos fundamentales dentro de una producción si se quiere lograr desarrollo y rentabilidad, existiendo una serie de factores que podrían afectar a este proceso.

## **2.3. Importancia de la Calidad de Gametos en Peces.**

Navas (1997) indica que la rentabilidad económica de las explotaciones piscícolas depende en buena medida, de un aporte adecuado de huevos de buena

calidad, es decir, capaz de producir una descendencia viable, que llegue al estado adulto en las mejores condiciones para su comercialización. Para evaluar la calidad de los huevos y su descendencia de cualquier especie de teleósteos, es un requisito previo mantener un sistema de cultivo fiable (Carrillo *et al.*, 1999). La calidad del huevo de un pez se define como el conjunto de características del huevo que determinan la capacidad para sobrevivir y generar un individuo sano y viable (Bromage, 1995). En general, se han usado diferentes indicadores de la calidad de los huevos y entre ellas se encuentran; flotabilidad, tamaño (diámetro), distribución y número de gotas lipídicas, porcentaje de fertilización, porcentaje de eclosión, supervivencia larvaria, simetría celular durante las primeras divisiones celulares de la embriogénesis y porcentaje de embriones normales, la composición bioquímica de los huevos (vitaminas, caratenoides, lípidos, ácidos grasos), particularmente ácido Docosahexaenoico (22:6n-3, DHA), ácido Eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA), ácido Araquidónico (20:4n-6, ARA) y sus proporciones relativas, y la forma y transparencia del huevo, entre otras (Carrillo *et al.*, 1999; Prat, 2001). Por otro lado, Blanco Cachaferiro (1995) considera que en trucha arcoiris los huevos de buena calidad son aquellos que se distinguen por los altos porcentajes de supervivencia durante su incubación y eclosión, así como por las características de los alevines a que han dado lugar, especialmente referido al estado físico y rapidez de crecimiento.

La calidad de los huevos y de la descendencia se ve afectada por una serie de factores, como lo son las condiciones de cultivo (calidad y abastecimiento del agua, enfermedades), ambiente (temperatura, luminosidad, salinidad),

procedimientos de selección (producción, conservación), manipulación (tejido de la malla, anestésias en el transporte, inyecciones de prueba), técnicas de inducción al desove, control del sexo y alimentación (Carrillo *et al.*, 1999; Izquierdo *et al.*, 2001).

#### **2.4. Importancia de los Ácidos Grasos.**

Los ácidos grasos, corresponden a un grupo de ácidos orgánicos, que poseen un único grupo carboxilo (-COOH), entre estos se encuentran los ácidos grasos saturados, (donde todos sus átomos de carbono están unidos por enlaces simples y se encuentran saturados de hidrógeno), los ácidos grasos insaturados (que presentan uno o más dobles enlaces entre los carbonos, que producen una rígida torcedura en la cadena hidrocarbonada). Dentro de los lípidos, se encuentran los lípidos polares o fosfolípidos, formados de cadenas hidrófobas e hidrofílicas, lo que les confiere un papel trascendental en la formación y fluidez de las membranas biológicas durante la organogénesis de embriones (Corraze *et al.*, 1991) y desarrollo embrionario. Otro grupo de lípidos son los llamados lípidos neutros, constituidos principalmente por triacilgliceroles (TAG), que sirven parcialmente como recurso metabólico de energía y comúnmente son la mayor reserva energética en salmónidos (Mayzaud *et al.*, 1998).

Durante el desarrollo ovárico en los oocitos también se acumula gran cantidad de lípidos, los cuales se localizan en dos compartimentos distintos que son: la parte

lipoproteica del vitelo, asociados a las proteínas, especialmente la lipovitelina y en la gota de grasa. Los lípidos asociados al vitelo son principalmente lípidos polares (fosfolípidos), ricos en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), y destinados a ser usados como lípidos estructurales, como fuente de energía y como precursores de eicosanoides. Los lípidos presentes en la gota de grasa son lípidos neutros, tales como triglicéridos (TG), ésteres de colesterol y ésteres céricos ricos en ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs) y representan principalmente una reserva energética, incluso después del destete, en caso de condiciones desfavorables de alimento, ya que en muchas especies parte o toda la gota de grasa se mantiene hasta después del destete (Prat, 2001).

En cuanto al contenido lipídico, se ha encontrado que en algunas especies marinas como el rodaballo, la platija o la lubina, un elevado contenido total de lípidos en los huevos corresponde, generalmente, con una baja viabilidad (Devauchelle *et al.*, 1982). Del mismo modo, en *Caregonus albula*, una especie de agua dulce, una concentración alta de lípidos en los huevos fue indicativa de mala calidad (Kjorsvik *et al.*, 1990). Sin embargo, las cantidades de ciertos micronutrientes como vitaminas o minerales y, en particular la composición de ácidos grasos en los lípidos de los huevos, ejercen una enorme influencia sobre su viabilidad y de las larvas que se produzcan (Kjorsvik *et al.*, 1990).

La composición de ácidos grasos en las ovas también ha sido relacionada con la calidad de los embriones, encontrándose mayores niveles de ácidos saturados y particularmente poliinsaturados en las ovas de turbot consideradas de

mejor calidad (Planas *et al.* 1991). De manera similar, han sido reportadas diferencias en la composición de ovas entre peces cultivados y silvestres de *Dicentrarchus labrax*, *Solea vulgaris* y *Scophthalmus maximus* (Devauchelle *et al.*, 1982), como también en halibut (Parrish *et al.*, 1995), esturiones (Czesny *et al.*, 2000) y salmones del Atlántico (Pickova *et al.*, 1999), también asociadas con la calidad de ovas. Las fuentes halladas para las diferencias entre peces silvestres y de cultivo fueron atribuidas por los autores a una influencia dietaria, pero también a una adaptación ambiental para peces de la misma especie, pero de poblaciones anádromas y no anádromas.

## **2.5. Importancia de la Nutrición en los Reproductores de Peces.**

Después de las proteínas, los lípidos constituyen un importante grupo de nutrientes (Steffens, 1987). Los lípidos de la dieta juegan un papel importante en los procesos de producción de energía y como fuente de ácidos grasos esenciales (EFA) (Watanabe, 1982). Los peces, normalmente no utilizan los hidratos de carbono, pero se apoyan en las proteínas y lípidos para satisfacer las demandas de energía para el crecimiento y reproducción. Esto se ejemplifica en el caso del salmón silvestre, en que la hembra destina el 90% de los lípidos y cerca del 50% de las proteínas de su musculatura para el desarrollo de las gónadas, significando para algunas especies la muerte después del desove (Grethe, 1999). En peces, las diferencias en los perfiles de ácidos grasos no sólo deben ser consideradas con respecto al hábitat de la especie (agua dulce y/o marino), también debe ser

basado en consideración a su dieta natural, en particular si una especie es herbívora, omnívora o carnívora.

Recientes estudios en ácidos grasos esenciales (EFA) en peces, han demostrado que los requisitos de EFA en los peces difieren notablemente entre las distintas especies (Watanabe, 1982), siendo un factor nutritivo que afecta en gran medida la calidad de huevos y larvas de peces (Fernandez-Palacios *et al.*, 1995; Abid-Ayad *et al.*, 1997; Furuita *et al.*, 2000). Muchos investigadores han demostrado que la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) requiere ácidos grasos de la familia linolénica (de la serie n-3) para su máximo crecimiento, para la mejor conversión del alimento y para estar libre de patologías (Watanabe, 1982). Por otro lado, en los peces de aguas cálidas como la carpa y catfish, los requerimientos de ácidos grasos esenciales son inferiores a los de peces de aguas frías como la trucha arcoiris. En tanto, Ibeas *et al.* (2000) menciona que los niveles de macronutrientes, tales como: proteínas, lípidos y carbohidratos, pueden tener efectos en los procesos reproductivos y afectar notablemente sus niveles en el cerebro, produciendo importantes consecuencias en la calidad de la descendencia. El porcentaje de huevos morfológicamente normales (indicadores de la viabilidad del huevo) de la dorada (*Sparus aurata*) se ve incrementada con la elevación de los niveles de n-3 HUFA en las dietas de los reproductores y la incorporación de estos ácidos grasos en los huevos (Izquierdo *et al.*, 2000). De la misma forma, ha sido demostrado que una deficiencia de n-3 HUFA en dietas

para reproductores afecta negativamente la fecundidad, tasas de fecundación y eclosión en muchas especies (Rainuzzo *et al.*, 1997; Furuita *et al.*, 2000).

Los mayores componentes fosfolipídicos de la membrana son los ácidos Poliinsaturados (PUFA), dentro de este grupo, el ácido araquidónico (ARA) y el ácido eicosapentaenoico (EPA) actúan como precursores de los eicosanoides biológicamente activos, como las prostaglandinas (Bell *et al.*, 1986; Navas, 1997; De Silva *et al.*, 1998; Asturiano *et al.*, 2000). Estas sustancias intervienen en un amplio espectro de funciones básicas para el organismo (inmunidad, reacciones inflamatorias, coagulación sanguínea) y además, están relacionados con varios procesos reproductivos, incluso la producción de esteroides de hormonas y el desarrollo gonadal y ovulación (Izquierdo *et al.*, 2000). Sin embargo, los eicosanoides derivados del ácido araquidónico tienen mayor actividad biológica que los derivados del ácido eicosapentaenoico (Navas, 1997). En cuanto a los ácidos grasos eicosapentaenoico y araquidónico (EPA y ARA), es sabido además que su importancia reside en el papel que estos desempeñan como precursores en la síntesis de prostaglandinas que tienen influencias en la regulación del estado terminal del ciclo reproductivo, ovulación y desove (Jobling, 1994) pudiendo ser perjudiciales altos niveles de ácido eicosapentaenoico sobre el ácido araquidónico, puesto que el ácido eicosapentaenoico se desenvuelve como substrato competidor del ácido araquidónico en la síntesis de prostaglandinas (Carrillo *et al.*, 1999; Pickova *et al.*, 1999). En estos términos, el ácido araquidónico ha sido asociado a la calidad y sobrevivencia de embriones de peces planos (Izquierdo *et al.*, 2000; Furuita *et al.*, 2000) y salmones del Atlántico no anádromos (Pickova *et*

*al.*, 1999). En el caso del ácido docosahexaenoico (DHA) su importancia radica en el desarrollo del sistema nervioso, de la visión y construcción de las membranas, entre otras (Pickova *et al.*, 1999).

Del mismo modo, Navas *et al.* (1997) mencionó que el ácido araquidónico es igualmente importante, ya que determina la calidad de los huevos y es el material base para la formación de ciertas prostaglandinas que son importantes para la maduración reproductiva. No sólo la deficiencia, sino también el exceso de ácidos grasos en la dieta de los reproductores afecta negativamente la reproducción, por ejemplo, los niveles altos de n-3 HUFA dietéticos redujo la fecundidad total de dorada (Izquierdo *et al.*, 2000).

En todas las poblaciones de *Galaxias maculatus* los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) son el principal grupo de ácidos grasos del total de lípidos en el músculo, seguido de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados (De Silva *et al.*, 1998; Dantagnan, 2003). Los ácidos grasos que predominan en los músculos de los ejemplares adultos de poblaciones de agua dulce de *Galaxias maculatus* son el ácido palmítico (16:0) y ácido docosahexaenoico [(DHA) (22:6n-3)] y en las poblaciones estuarinas se agrega además, el ácido Oléico (18:8n-9) (De Silva *et al.*, 1998). El mismo autor sugiere que además de la dieta, el hábitat es uno de los factores que puede influir en el perfil de ácidos grasos en *Galaxias maculatus*.

El cultivo del puye es un aporte a la diversificación de la acuicultura chilena. La integración a la actividad acuicultura de una especie nativa puede abrir importantes proyecciones económicas y sociales debido a su alto valor comercial. Por otro lado, permitirá conservar este recurso, ya que las poblaciones naturales en los últimos años han decaído drásticamente debido a los intensos niveles de captura de los que ha sido objeto. Para realizar el cultivo del puye es necesario conocer una serie de aspectos que pueden afectar el desarrollo del cultivo, como lo son; las técnicas de cultivo, alimentación, patologías, técnicas de manejo, parámetros reproductivos, etc... En este sentido y a la luz de los antecedentes señalados anteriormente, este estudio pretende determinar si los ácidos grasos tienen relación con los niveles de fertilidad de las hembras y su variación entre las poblaciones de *Galaxias maculatus* silvestres y de cultivo. Por otro lado, establecer el efecto bioquímico que puede producir el cautiverio para esta especie y determinar si la composición de ácidos grasos de la gónada o el músculo tiene relación con los niveles de fertilidad.

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivos Generales**

- Estudiar la composición de ácidos grasos en gónada y músculo de hembras reproductoras de puyes con alta y baja fertilidad, provenientes de poblaciones silvestres y de cultivo.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Determinar el perfil de ácidos grasos en músculo y gónada de *Galaxias maculatus*
- Determinar si existen diferencias significativas en la composición de ácidos grasos de gónadas entre hembras reproductoras de puye con alta y baja fertilidad en poblaciones silvestres y de cultivo experimental.
- Determinar si existen diferencias significativas en la composición de ácidos grasos de músculo entre hembras reproductoras de puye con alta y baja fertilidad en poblaciones silvestres y de cultivo experimental.

#### IV. PLANTEAMIENTO DE LAS HIPÓTESIS

En el presente estudio se plantearon las siguientes hipótesis:

La composición de ácidos grasos en gónadas tanto de la fracción neutra como polar, podría llegar a ser indicativa del nivel de fertilidad, puesto que algunos ácidos grasos están asociados a ciertos fenómenos reproductivos, por lo cual se espera encontrar diferencias entre hembras de baja y alta fertilidad.

Por otra parte, conocido es el efecto de ciertos factores ambientales y de alimentación en los reproductores de peces, por lo cual también se espera que existan diferencias entre hembras provenientes de poblaciones silvestres y hembras provenientes de cautiverio, en relación a la composición de ácidos grasos en gónadas y en músculo.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó con aportes del Proyecto Fondef D9911003 en dependencias de la Escuela de Acuicultura de la Universidad Católica de Temuco (UCT). La población silvestre de puye (*Galaxias maculatus*) se capturó en la localidad de Hornopirén (Latitud 41° 52' 34''S, Longitud 72° 25' 53'') distante a 110 kilómetros de la ciudad de Puerto Montt en la Décima región. Por otro lado, las poblaciones experimentales F1 (Primera generación en cautiverio) y F2 (Segunda generación en cautiverio) fueron obtenidas desde el hatchery de la Escuela de Acuicultura de la UCT.

Los ejemplares de puye de cultivo fueron alimentados a saciedad y en forma manual con alimento para salmones Starter, fabricado en base a aceites y harinas de origen marino.

### **5.1. Obtención de la Muestras.**

Una vez que se detectó la madurez máxima en los reproductores de puye de cada una de las poblaciones, se procedió a realizar el desove. La población silvestre y F1 fueron desovadas en la primavera del año 2000, y la población F2 en el otoño del año 2001. Para realizar el desove, primeramente se anestesiaron

los ejemplares con una solución de Benzocaína (BZ-20 Veterquímica) a una concentración de 0.3ml/L. Una vez anestesiados se realizó la extracción de gametos vía masaje abdominal, recepcionándolos en placas Petri previamente rotuladas. La fertilización se realizó utilizando en método húmedo.

Para realizar el pool de semen se utilizaron cuatro machos por cada veinte hembras, para posteriormente realizar la fertilización de los huevos, para lo cual se utilizó 0.01 ml de un pool de semen y 10 ml de agua de pozo por cada hembra. Luego de cinco minutos de efectuada la fecundación se realizó un enjuague de las ovas, para eliminar el resto de semen y cualquier otro tipo de impureza, posteriormente se dejó reposar por unos treinta minutos, antes de ser instalados en la sala de incubación.

Luego que los ejemplares fueron desovados se escogieron al azar 20 hembras desovadas de cada población, las cuales fueron identificadas y sacrificadas para luego ser congeladas a una temperatura de  $-83^{\circ}\text{C}$  en un ultracongelador Electrolux MRF-480-86.

## **5.2. Determinación de la Fertilidad.**

Cinco horas después de realizada la fertilización, se procedió a realizar la determinación del porcentaje de fertilización o tasa de fecundación temprana, tomando 50 ovas por hembra desovada y contando bajo estéreo microscopio

cuántas de ellas fueron fertilizadas. Se consideró como ova fertilizada a aquella que presentó dos o más blastómeros de tamaño uniforme y forma regular.

El porcentaje de fertilización se determinó según la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de Fertilización: } \frac{\text{HF}}{\text{N}} * 100$$

Donde, HF= N° huevos fertilizados

N= Tamaño de muestra (50)

Una vez obtenidos los porcentajes de fertilización de cada una de las hembras de las distintas poblaciones, los ejemplares fueron separados en hembras de alta fertilidad cuando el porcentaje de fertilización era mayor al 70%, y hembras de baja fertilidad, cuando era menor al 70%.

### **5.3. Separación de Gónadas y Músculo.**

Una vez que se reunieron todos los ejemplares de cada una de las poblaciones, fueron descongelados para cortarles la cabeza y la cola, para posteriormente extraerles el músculo y los restos de gónada que quedaron después de realizar el desove en cada hembra. Las muestras de gónadas y músculos fueron pesadas individualmente en una balanza analítica, luego fueron agrupadas en gónadas con alta y baja fertilidad, y músculos con alta y baja fertilidad para cada población, ya que el peso de la gónada de cada una de las muestras no alcanzó la biomasa requerida para realizar los análisis en laboratorio individualmente (Tabla 1).

**Tabla 1. Parámetros biométricos (media y desviación estándar) y fertilidad. Hembras silvestres, F1 y F2 de baja y alta fertilidad de puye (*Galaxias maculatus*).**

	<b>Fertilidad (%)</b>	<b>Peso Promedio de Hembras (g)</b>	<b>Peso Promedio de Gónadas (g)</b>	<b>Peso Promedio de Músculo (g)</b>
<b>Hembras Silvestres</b>	< 70%	1.85 ± 0.32	0.08 ± 0.08	0.58 ± 0.13
	> 70%	1.28 ± 0.34	0.03 ± 0.03	0.37 ± 0.08
<b>Hembras F1</b>	< 70%	3.30 ± 1.29	0.23 ± 0.21	1.14 ± 0.57
	> 70%	2.25 ± 0.84	0.07 ± 0.06	0.84 ± 0.35
<b>Hembras F2</b>	< 70%	1.53 ± 0.25	0.06 ± 0.05	0.57 ± 0.12
	> 70%	1.45 ± 0.29	0.04 ± 0.03	0.53 ± 0.11

#### **5.4 Análisis Bioquímico.**

##### **5.4.1 Extracción de lípidos.**

Antes de efectuar la extracción de lípidos se realizó la preparación de las muestras, que consistió en agrupar las gónadas y músculos de hembras con alta y baja fertilidad de cada población. Una vez agrupadas, las muestras se maceraron hasta lograr una masa homogénea, para luego pesar 0.1 gramos de cada muestra en un tubo previamente pesado, lo que se repitió con cada replica. La extracción de lípidos se realizó a través del método descrito por Folch (1957), donde se utilizó como solvente cloroformo:metanol (2:1) y Butilhidroxitolueno (BHT) 0.01% como antioxidante. Es necesario mencionar que cada una de las muestras se realizó en monoplicado.

#### **5.4.2 Separación de lípidos neutros y polares.**

A partir de la muestra de lípidos totales realizada anteriormente en gónada y músculo en cada una de las poblaciones, se procedió a efectuar la separación de los lípidos neutros y polares con la ayuda de columnas de sílica, según la metodología descrita por Juaneda & Rocquelin (1985), donde se utilizó cloroformo y cloroformo:metanol (49:1) como solvente para la extracción de lípidos neutros y para la extracción de lípidos polares metanol.

#### **5.4.3 Determinación de ácidos grasos.**

Posterior a la separación de lípidos neutros y polares, se procedió a la preparación metil – ester de ácidos grasos según la metodología descrita por Morrisson & Smith (1986). Para poder realizar la identificación de los ácidos grasos se utilizó un cromatógrafo marca Hewlett Packard 6890 Series GC System, con la columna HP-225 (30 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno, 0.25  $\mu$ m espesor de film y utilizando helio como gas transportador). El programa para poder interpretar los porcentajes de área de los ácidos grasos fue el HP ChemStations.

### **5.5. Análisis estadístico.**

Los datos fueron expresados como porcentajes de área, y se les transformó a arcoseno para poder lograr homocedasticidad. Los resultados se analizaron estadísticamente a través de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 %. Anterior a este procedimiento, se realizaron pruebas de hipótesis, de normalidad y homogeneidad de varianzas. Las diferencias fueron analizadas a través del test de Tuckey, con la ayuda del programa estadístico MS STATISTICA.

## **VI. RESULTADOS**

Los resultados muestran que los ácidos grasos saturados (SAFA) son los de mayor predominancia, en músculo y gónadas de hembras de alta y baja fertilidad de los tres tipos de poblaciones. Dentro de los SAFA, el ácido graso que presentó mayor porcentaje de área fue el Palmítico (16:0).

En el caso de los ácidos grasos Monoinsaturados, el ácido graso de mayor importancia en los tres tipos de poblaciones fue el ácido Oléico (18:1n-9). Para los ácidos Poliinsaturados, el ácido Docosahexaenoico (22:6n-3) es el que presenta los mayores porcentajes de área.

### **5.1. Lípidos en Músculo**

#### **5.1.1. Comparación de Lípidos Neutros en Músculo.**

Al realizar una comparación en la composición de ácidos grasos entre hembras de baja y alta fertilidad para una misma población, los ácidos grasos Saturados (SAFA) en general no presentan diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Siendo la excepción la población F1, la cual presenta diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en sus porcentajes de área, siendo estos de 31.8% para baja fertilidad y

de 39.1% para alta fertilidad. De la misma forma, los ácidos grasos Monoinsaturados (MUFA) no registran diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre baja y alta fertilidad en la población silvestre y F2, mientras que la población F1 sí presenta diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre baja y alta fertilidad, siendo los porcentajes de área 36.5 y 29.2 %, respectivamente (Figura 1 y Tabla 2). Por otro lado, los ácidos Poliinsaturados (PUFA), Palmítico, Oléico, Linoléico, Linolénico, Araquidónico, Eicosapentanoico y Docosahexaenoico no presentaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre baja y alta fertilidad dentro de cada una de las poblaciones (Figura 1 y Tabla 2).

Los ácidos grasos saturados (SAFA), presentaron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre las distintas poblaciones de baja fertilidad, donde los porcentajes de área en hembras silvestres fue de 45.9%, en hembras F1 fue de 31.8% y en hembras F2 fue de 41.1% (Tabla 2). Por otro lado, al comparar hembras de alta fertilidad de distintas poblaciones se observó una diferencia significativa ( $P<0.05$ ) entre las hembras silvestres y F1, siendo sus porcentajes de área 44.2 y 39.1%, respectivamente. Por otro lado, los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) presentan diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre las distintas poblaciones con baja fertilidad, donde se aprecia un aumento significativo entre las hembras silvestres y F1, incremento que va desde 29.9 a 36.5 %.

En los ácidos grasos Poliinsaturados (PUFA), se observaron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre hembras silvestres y F1 de baja fertilidad, con 24.1 y 31.6%, respectivamente (Figura 1).

Para el ácido Palmítico (16:0) se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las hembras silvestres (30.4%) y F1 (20.8%) de baja fertilidad (Figura 1). En hembras de alta fertilidad de distintas poblaciones, no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) (Figura 1). El ácido Oléico (18:1n-9), mostró un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) de 13.7 a 19.8% entre hembras silvestres y F1 de baja fertilidad (Tabla 2, Figura 1).

En el ácido Linoléico (18:2n-6) se registraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las poblaciones silvestre, F1 y F2 de baja fertilidad, donde los porcentajes de área fueron 1.7, 4.2 y 5.1%, respectivamente. En hembras de alta fertilidad se registraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre la población silvestre (2.1%) y F2 (4.3%) (Tabla 2). Los ácidos Linolénico (18:3n-3) y Araquidónico [ARA (20:4n-6)] no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre los diferentes grupos, para hembras de baja y alta fertilidad (Tabla 2). Por el contrario, el ácido Eicosapentaenoico [EPA (20:5n-3)] mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestre y F2 de baja fertilidad, donde los porcentajes de área registrados fueron 3.3 y 2.4%, respectivamente (Figura 1). De igual manera, se registraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras F1 (3.9%) y F2 (2.4%) de baja fertilidad (Figura 1). En el caso de hembras de alta fertilidad para el mismo ácido, también se manifiestan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestres (4.0%) y F2 (2.4%), y entre F1 (3.3%) y F2 (2.4%) (Figura 1).

Por último, el ácido Docosahexaenoico [DHA (22:6n-3)] mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestre y F1 de baja fertilidad, que fue de 10.8 y 15.9 %, respectivamente (Figura 1). En hembras de alta fertilidad de distintas poblaciones se registraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestres con 12.5% y F1 con 18.2%, y entre hembras F1 con 18.2% y F2 con 12.2% (Tabla 2).

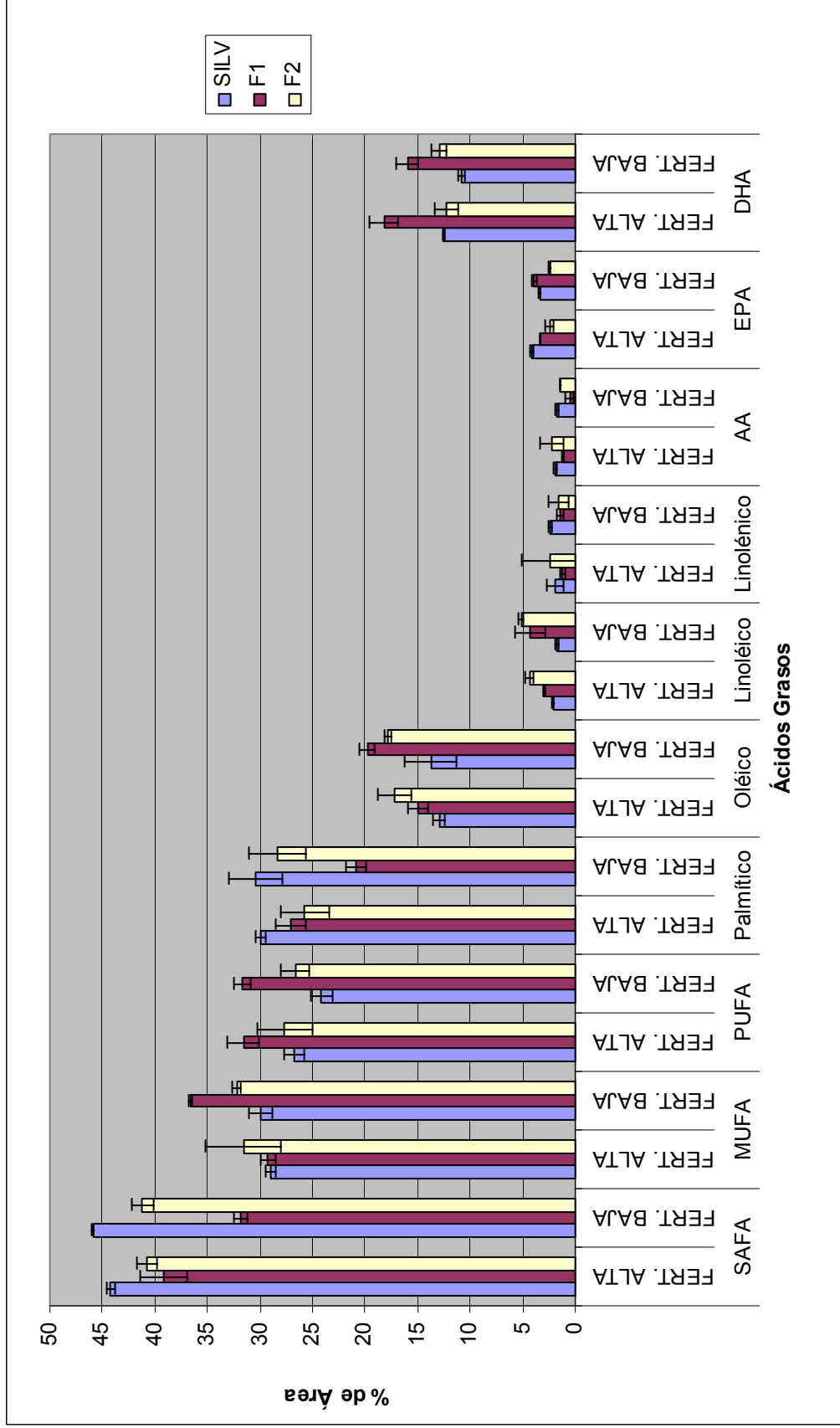


Figura 1. Lípidos neutros (% de área) en Músculo de puye (*Galaxias maculatus*) de alta y baja fertilidad de origen silvestre (Silv.) y de cultivo experimental (F1 y F2).

### **6.1.2. Comparación de Lípidos Polares en Músculo.**

Los ácidos grasos Saturados (SAFA) en general no registran diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre baja y alta fertilidad para una misma población, excepto en la población F1 donde se registraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre baja y alta fertilidad, siendo los porcentajes de área 49.5 y 38.8%, respectivamente. De manera similar, se comportan los ácidos grasos Monoinsaturados (MUFA), donde sólo la población F1 presenta diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las hembras de baja fertilidad con 27.2% y de alta fertilidad con 23.1% (Tabla 3). Los ácidos grasos Poliinsaturados (PUFA) no presentan diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre baja y alta fertilidad en las poblaciones silvestres y F1, contrariamente la población F1 registró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), donde la baja fertilidad fue de 23.2% y la alta fertilidad fue de 38.0%. En el caso del ácido Palmítico la población F1 presenta diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre baja y alta fertilidad donde los porcentajes de área varían entre 35.8 y 24.5%, respectivamente. En el mismo ácido graso no se aprecian diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre baja y alta fertilidad en las poblaciones silvestres y F1. Para el ácido Oléico al comparar baja y alta fertilidad de la población F1, esta registró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), siendo el porcentaje de área 15.5% para baja fertilidad y de 13.4% para alta fertilidad (Tabla 3) y en el caso de las poblaciones silvestres y F2 estas no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ).

Por otro lado, los ácidos Linoléico, Linolénico, Araquidónico, Eicosapentanoico y Docosahexaenoico no presentaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre baja y alta fertilidad en cada una de las poblaciones.

En los lípidos polares se registraron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) en los niveles de ácidos grasos saturados (SAFA) entre las poblaciones F1 y F2 de baja fertilidad, donde los porcentajes de área fueron 49.5 y 35.7%, respectivamente. Los ácidos grasos Monoinsaturados mostraron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre hembras silvestres, F1 y F2 de alta fertilidad con 27.2, 23.1 y 20.8%, respectivamente (Tabla 3).

Los ácidos grasos Poliinsaturados registran diferencias significativas entre las hembras F1 y F2 de baja fertilidad que varió de un 23.2 a un 40.0% (Figura 2). El porcentaje de área en el ácido Palmítico presenta diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre hembras F1 y F2 de baja fertilidad, ya que, en hembras F1 se registró 35.8%, mientras que en hembras F2 un 25.2%. En cambio las hembras silvestres no presentaron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) con las demás poblaciones. Para el ácido Oléico no se apreciaron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre las distintas poblaciones, ya sea para baja o alta fertilidad (Figura 2)

En el caso del ácido Linoléico se encontraron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre hembras silvestres (1.0%) y F2 (2.9%) y hembras F1 y F2 de baja fertilidad, donde los porcentajes de área fueron 1.5 y 2.9%, respectivamente. Para

el mismo ácido graso, en hembras de alta fertilidad se presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las poblaciones silvestres con 1.2% y F2 con 2.5%, y entre la población F1 y F2, donde los porcentajes de área fueron 1.4 y 2.5%, respectivamente.

El ácido Linolénico y Araquidónico no registraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre las distintas poblaciones, ya sea de baja y alta fertilidad (Tabla 3). En cambio, el ácido Eicosapentaenoico (EPA) sólo presenta diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras F1 y F2 de baja fertilidad, donde los porcentajes de área fueron 2.3 y 4.3%, respectivamente. Por último, el ácido Docosahexaenoico, al igual que el ácido graso anterior, registró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre la población F1 con 13.7% y F2 con 26.4%, en hembras de baja fertilidad (Tabla 3 y Figura 2).



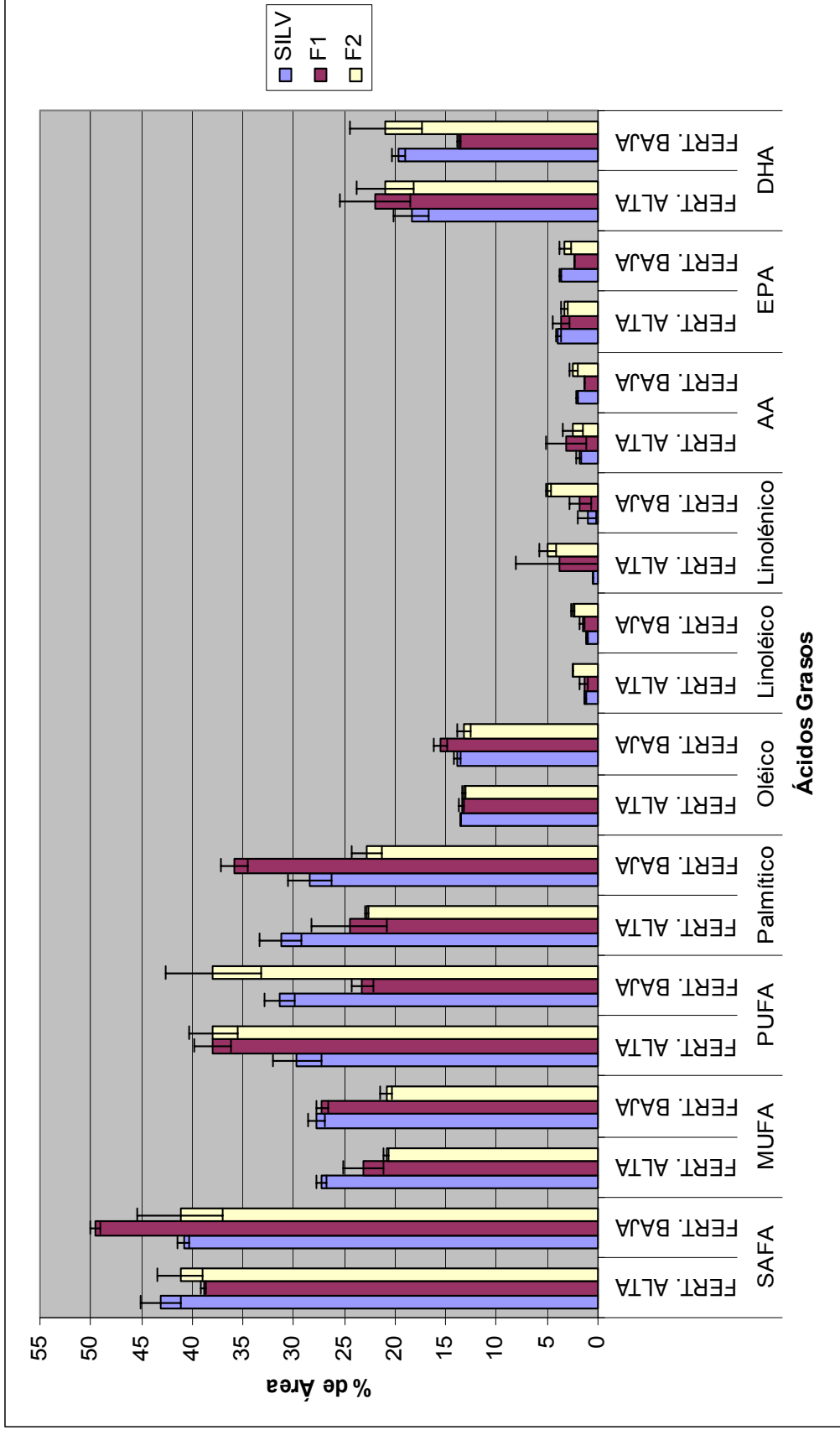


Figura 2. Lípidos Polares (% de área) en Músculo de puye (*Galaxias maculatus*) de alta y baja fertilidad de origen silvestre (Silv.) y de cultivo experimental (F1 y F2).

Tabla 2. Resumen de ácidos grasos encontrados en la fracción de lípidos neutros en músculo de tres poblaciones de puye (*Galaxias maculatus*). Los resultados expresados como media  $\pm$  y desviación estándar del % de área. n=2.

ÁCIDOS GRASOS	LÍPIDOS NEUTROS							
	HEMBRAS SILVESTRES		HEMBRAS F1		HEMBRAS F2			
	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA
SAFA	45,90 $\pm$ 0,04a	44,22 $\pm$ 0,43x	31,80 $\pm$ 0,62b*	39,14 $\pm$ 2,25y*	41,17 $\pm$ 0,99c	40,76 $\pm$ 0,95xy		
MUFA	29,93 $\pm$ 1,07a	28,99 $\pm$ 0,52x	36,56 $\pm$ 0,16b*	29,25 $\pm$ 0,72x*	32,17 $\pm$ 0,40ab	31,60 $\pm$ 3,57x		
PUFA	24,18 $\pm$ 1,02a	26,79 $\pm$ 0,96x	31,64 $\pm$ 0,79b	31,60 $\pm$ 1,54x	26,65 $\pm$ 1,38ab	27,64 $\pm$ 2,63x		
Ác. Palmítico	30,47 $\pm$ 2,54a	29,95 $\pm$ 0,48x	20,85 $\pm$ 1,00b	27,01 $\pm$ 1,43x	28,35 $\pm$ 2,69a	25,78 $\pm$ 2,30x		
Ác. Oléico	13,77 $\pm$ 2,40a	12,95 $\pm$ 0,55x	19,82 $\pm$ 0,78b	15,04 $\pm$ 0,96x	17,86 $\pm$ 0,37ab	17,27 $\pm$ 1,58x		
Ác. Linoléico	1,72 $\pm$ 0,18a	2,13 $\pm$ 0,11x	4,28 $\pm$ 1,41b	2,97 $\pm$ 0,06xy	5,17 $\pm$ 0,26b	4,33 $\pm$ 0,38y		
Ác. Linolénico	2,42 $\pm$ 0,19a	1,90 $\pm$ 0,75x	1,42 $\pm$ 0,34a	1,21 $\pm$ 0,27x	1,56 $\pm$ 0,98a	2,39 $\pm$ 2,63x		
Ác. Araquidónico	1,78 $\pm$ 0,18a	1,85 $\pm$ 0,17x	0,52 $\pm$ 0,37a	1,18 $\pm$ 0,03x	1,45 $\pm$ 0,03a	2,17 $\pm$ 1,09x		
Ác. Eicosapentaenoico	3,39 $\pm$ 0,11a	4,09 $\pm$ 0,20x	3,94 $\pm$ 0,27a	3,39 $\pm$ 0,02x	2,46 $\pm$ 0,13b	2,45 $\pm$ 0,40y		
Ác. Docosahexaenoico	10,86 $\pm$ 0,35a	12,53 $\pm$ 0,05x	15,99 $\pm$ 1,09b	18,20 $\pm$ 1,37y	12,94 $\pm$ 0,68ab	12,29 $\pm$ 1,15x		

Letras distintas indican diferencias significativas (P<0.05) entre distintas poblaciones (letras a,b,c. para fertilidad baja; letras x,y,z. para fertilidad alta). Asteriscos, indican diferencias significativas (P<0.05) entre fertilidad baja y alta para una misma población.

Tabla 3. Resumen de ácidos grasos encontrados en la fracción de lípidos polares en músculo de tres poblaciones de puye (*Galaxias maculatus*). Los resultados son expresados como media  $\pm$  desviación estándar del % de área. n=2.

ÁCIDOS GRASOS	LÍPIDOS POLARES							
	HEMBRAS SILVESTRES		HEMBRAS F1		HEMBRAS F2			
	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA		
SAFA	40,85 $\pm$ 0,63a	43,05 $\pm$ 1,99x	49,54 $\pm$ 0,49ab*	38,87 $\pm$ 0,22x*	35,73 $\pm$ 4,21ac	41,18 $\pm$ 2,17x		
MUFA	27,72 $\pm$ 0,87a	27,28 $\pm$ 0,44x	27,23 $\pm$ 0,59a*	23,11 $\pm$ 2,04y*	24,21 $\pm$ 0,54a	20,89 $\pm$ 0,23y		
PUFA	31,43 $\pm$ 1,50ab	29,68 $\pm$ 2,43x	23,23 $\pm$ 1,08a*	38,03 $\pm$ 1,82x*	40,06 $\pm$ 4,75b	37,93 $\pm$ 2,4x		
Ác. Palmítico	28,47 $\pm$ 2,15a	31,29 $\pm$ 2,07x	35,84 $\pm$ 1,36ab*	24,51 $\pm$ 3,72x*	25,24 $\pm$ 1,46ac	22,82 $\pm$ 0,15x		
Ác. Oléico	13,94 $\pm$ 0,32a	13,51 $\pm$ 0,01x	15,55 $\pm$ 0,64a*	13,40 $\pm$ 0,26x*	14,27 $\pm$ 0,64a	13,20 $\pm$ 0,14x		
Ác. Linoléico	1,09 $\pm$ 0,05a	1,26 $\pm$ 0,09x	1,57 $\pm$ 0,24a	1,40 $\pm$ 0,42x	2,99 $\pm$ 0,12b	2,52 $\pm$ 0,03y		
Ác. Linolénico	1,07 $\pm$ 0,83a	0,50 $\pm$ 0,06x	1,74 $\pm$ 1,04a	3,85 $\pm$ 4,20x	0,50 $\pm$ 0,21a	4,88 $\pm$ 0,83x		
Ác. Araquidónico	2,04 $\pm$ 0,04a	1,87 $\pm$ 0,24x	1,37 $\pm$ 0,01a	3,15 $\pm$ 1,95x	1,98 $\pm$ 0,44a	2,42 $\pm$ 0,99x		
Ác. Eicosapentaenoico	3,64 $\pm$ 0,08a	3,91 $\pm$ 0,26x	2,30 $\pm$ 0,01ab	3,63 $\pm$ 0,85x	4,30 $\pm$ 0,55ac	3,27 $\pm$ 0,35x		
Ác. Docosahexaenoico	19,67 $\pm$ 0,61a	18,41 $\pm$ 1,69x	13,70 $\pm$ 0,16ab	21,97 $\pm$ 3,46x	26,45 $\pm$ 3,53ac	20,93 $\pm$ 2,84x		

Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre distintas poblaciones (letras a,b,c. para fertilidad baja; letras x,y,z. para fertilidad alta). Asteriscos, indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre fertilidad baja y alta para una misma población.

## **6.2. Lípidos en Gónadas.**

### **6.2.1. Comparación de Lípidos Neutros en Gónadas.**

Al realizar la comparación de la composición de ácidos grasos en gónada de hembras con baja y alta fertilidad dentro de una misma población, se evidencia la no existencia de diferencias significativas ( $P>.05$ ) para la gran mayoría de los ácidos grasos analizados, donde el ácido Oléico fue el único ácido que presentó diferencias significativas ( $P<0.05$ ) en la interacción de baja y alta fertilidad en las hembras F1, la cual fluctuó entre un 3.3 y 15.3%, respectivamente.

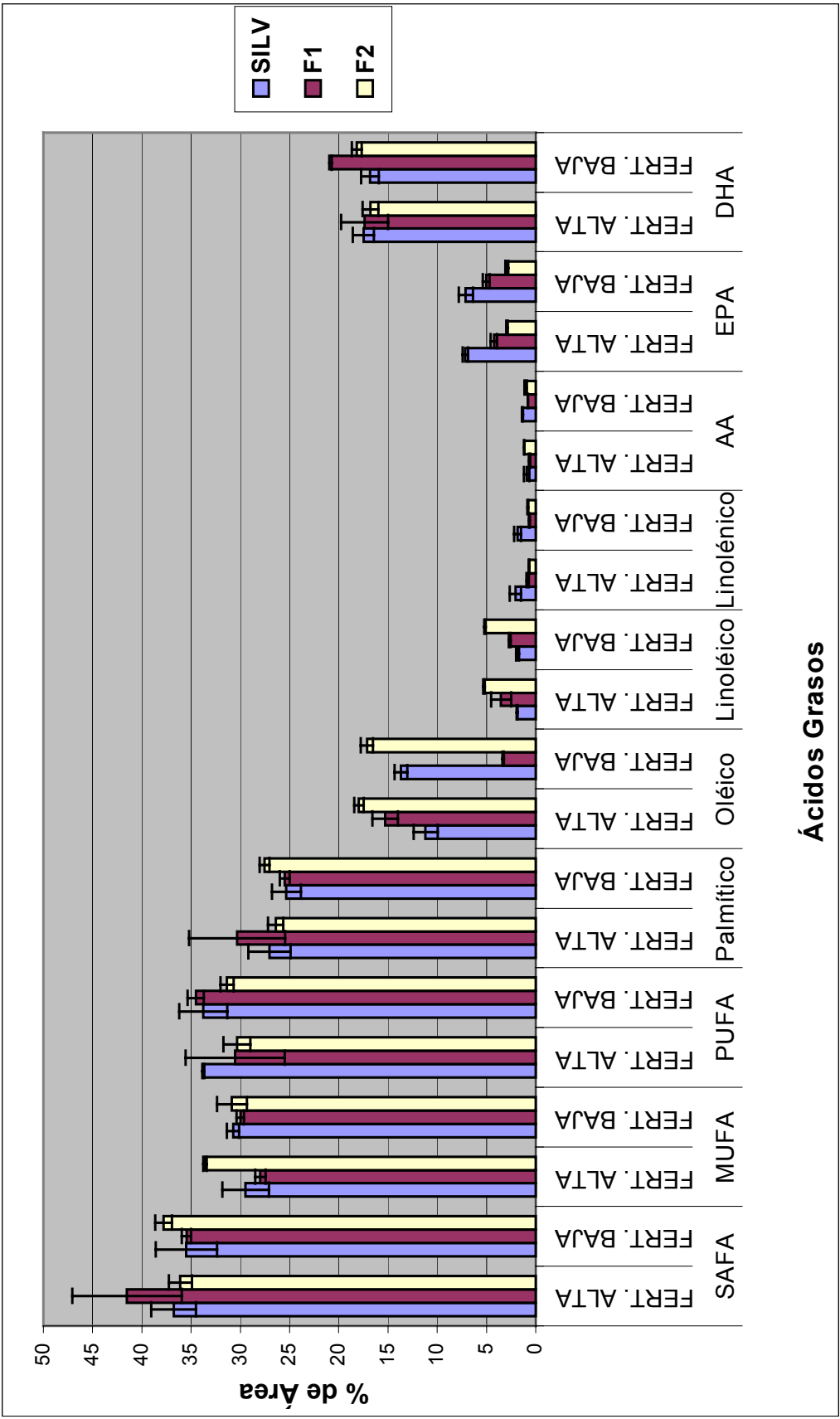
En el caso de los lípidos neutros en gónadas, los ácidos grasos Saturados (SAFA), Poliinsaturados (PUFA) y Palmítico no presentan diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre los porcentajes de área de las distintas poblaciones, ya sea en baja y alta fertilidad. Contrariamente, los ácidos Monoinsaturados, presentan diferencias significativas ( $P<0.05$ ) de 27.9 y 33.5% en las hembras F1 y F2 de alta fertilidad (Tabla 4).

En el ácido Oléico, entre hembras silvestres y F1 de baja fertilidad registraron diferencias significativas ( $P<0.05$ ), donde los porcentajes de área fueron de 13.7 y 3.3%, respectivamente (Figura 3). Por otro lado, hembras de baja fertilidad de la población F1 y F2 evidenciaron diferencias significativas, con porcentajes de área de 3.3% para las hembras F1 y de 17.1 para hembras F2

(Figura 3). En hembras de alta fertilidad se presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestres (11.1%), F1 (15.3%) y F2 (17.9%). Para el ácido Linoléico se presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestres y F2 de baja fertilidad, donde el porcentaje de área fluctuó en 1.8 y 5.1%, respectivamente (Figuras 5). En el caso de las hembras de alta fertilidad, para este mismo ácido graso, estas mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestres (1.9%), F1 (3.5%) y F2 (5.2%). El ácido Linolénico, registró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestres, F1 y F2 de baja fertilidad con porcentajes de área de 1.8, 0.65 y 0.79%, respectivamente (Tabla 4). En el mismo ácido graso, pero en hembras de alta fertilidad, estas mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestres (2.0%), F1 (0.83%) y F2 (0.68%) (Tabla 4).

El ácido Araquidónico presentó diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre hembras silvestres y F1 de baja fertilidad, siendo los porcentajes de área de 1.3 y 0.8%, respectivamente. Para hembras F1 y F2 de alta fertilidad se registró un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) desde un 0.6 a un 1.1%. El ácido Eicosapentaenoico mostró diferencias significativas en hembras de baja fertilidad entre la población silvestre (7.1%), F1 (5.0%) y F2 (2.9%), lo que evidencia una reducción significativa del porcentaje de este ácido graso. De igual manera se comportaron las hembras de alta fertilidad silvestres, F1 y F2, donde los porcentajes de área fueron 7.1, 4.2 y 2.9%, respectivamente.

Por último el ácido docosahexaenoico (DHA) no presentó diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre hembras silvestres, F1 y F2, ya sea, para baja y alta fertilidad (Tabla 4).



Ácidos Grasos

Figura 3. Lípidos neutros (% de área) en Gónadas de puye (*Galaxias maculatus*) de alta y baja fertilidad de origen silvestre (S) y de cultivo experimental (F1 y F2).

### **6.2.2. Comparación de Lípidos Polares en Gónadas.**

En la fracción de lípidos polares, la relación entre baja y alta fertilidad para cada una de la poblaciones no muestra diferencias significativas en la mayoría de los ácidos grasos analizados, siendo la excepción los ácidos Saturados (SAFA), donde sólo las hembras F1 registraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre baja y alta fertilidad, siendo los porcentajes de área 54.8 y 59.1%, respectivamente (Tabla 5).

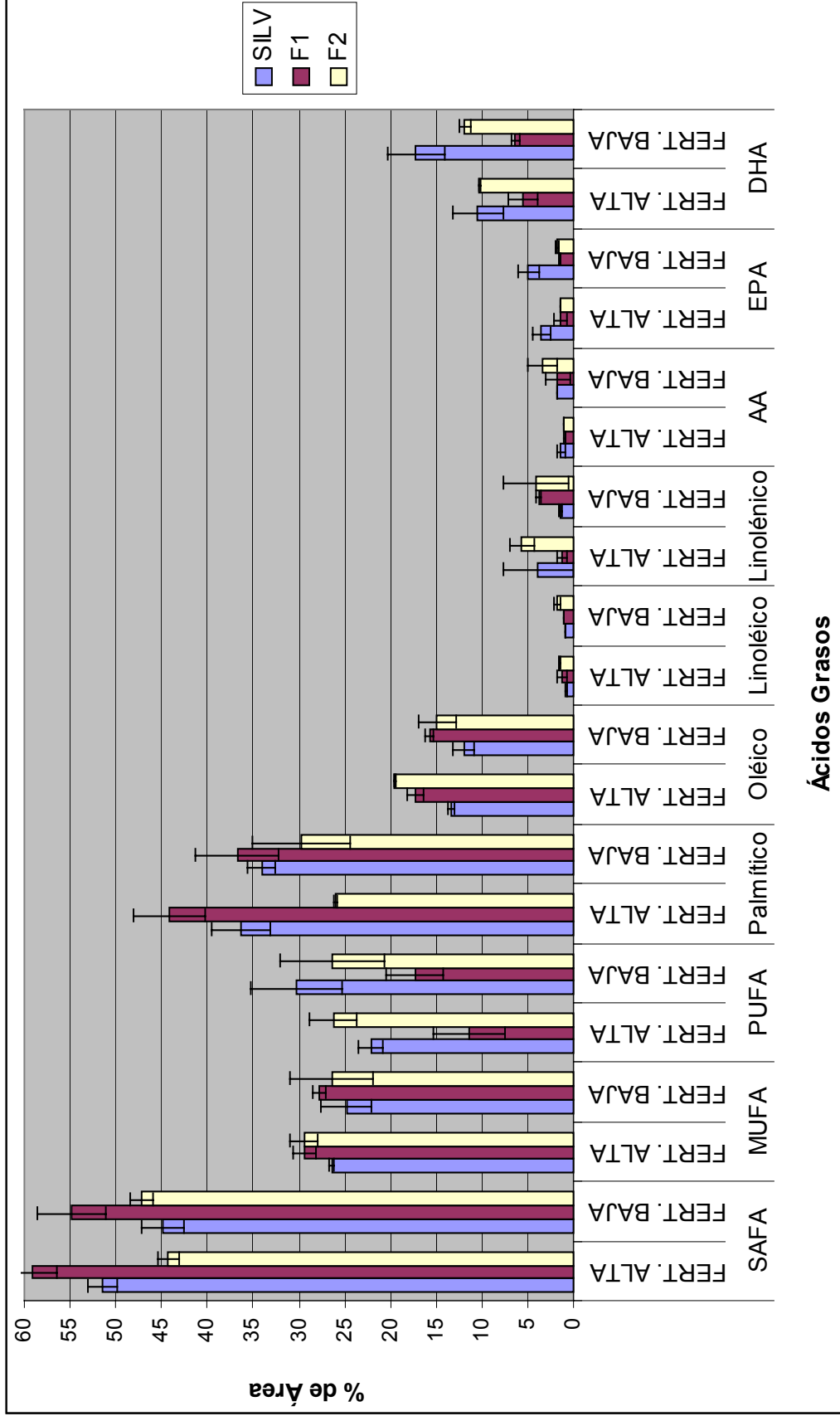
Los ácidos grasos saturados (SAFA) presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las hembras silvestres y F1 de baja fertilidad, variando desde 44.9 a 54.8%, respectivamente. De igual manera, se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre la población F1 (54.8%) y F2 (47.2%) de baja fertilidad. El en caso de las hembras de alta fertilidad, se pudo observar diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las hembras silvestres, F1 y F2 con porcentajes de área de 51.4, 59.1 y 44.2%, respectivamente (Tabla 5). Por el contrario, los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), ya sea en hembras de baja y alta fertilidad de las distintas poblaciones (Tabla 5).

Los ácidos Poliinsaturados (PUFA) mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) de 11.4 y 26.2% entre las hembras F1 y F2 de alta fertilidad (Figura 4). El

ácido Palmítico registró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) de 44.1 y 25.9% entre las hembras F1 y F2 de alta fertilidad (Figura 4).

El ácido Oléico registró diferencias significativo ( $P < 0.05$ ) entre las hembras silvestres y F2 de alta fertilidad donde los porcentajes de área fueron de 13.3 y 19.5%, respectivamente. En este mismo ácido graso, la población F2 presentó diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre baja (14.8%) y alta (19.5%) fertilidad. En el caso del ácido Linoléico, Linolénico y Araquidónico, estos no registraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) de ningún tipo (Tabla 5, Figuras 4).

Para el ácido Eicosapentaenoico (EPA) se registraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) de 4.9, 1.4 y 1.8% entre hembras silvestres, F1 y F2 de baja fertilidad (Tabla 5). En el caso del ácido Docosahexaenoico (DHA) se pudo apreciar la existencia de diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) de 17.2 y 6.3% entre hembras silvestres y F1 de baja fertilidad.



**Figura 4. Lípidos polares (% de área) en Gónadas de puye (*Galaxias maculatus*) de alta y baja fertilidad de origen silvestre (S) y de cultivo experimental (F1 y F2).**

Tabla 4. Resumen de ácidos grasos encontrados en la fracción de lípidos neutros en gónada de tres poblaciones de puye (*Galaxias maculatus*). Los resultados son expresados como media  $\pm$  desviación estándar del % de área. n=2.

ÁCIDOS GRASOS	LÍPIDOS NEUTROS							
	HEMBRAS SILVESTRES		HEMBRAS F1		HEMBRAS F2			
	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA
SAFA	35,48 $\pm$ 3,09a	36,77 $\pm$ 2,25x	35,47 $\pm$ 0,47a	41,52 $\pm$ 5,56x	37,80 $\pm$ 0,87a	36,08 $\pm$ 1,19x		
MUFA	30,74 $\pm$ 0,64a	29,48 $\pm$ 2,36x	30,00 $\pm$ 0,37a	27,97 $\pm$ 0,55xy	30,85 $\pm$ 1,54a	33,57 $\pm$ 0,17xz		
PUFA	33,77 $\pm$ 2,45a	33,75 $\pm$ 0,11x	34,53 $\pm$ 0,83a	30,52 $\pm$ 5,01x	31,35 $\pm$ 0,67a	30,35 $\pm$ 1,36x		
Ác. Palmítico	25,33 $\pm$ 1,47a	27,02 $\pm$ 2,14x	25,50 $\pm$ 0,50a	30,33 $\pm$ 4,86x	27,52 $\pm$ 0,49a	26,42 $\pm$ 0,75x		
Ác. Oléico	13,70 $\pm$ 0,64a	11,20 $\pm$ 1,22x	3,30 $\pm$ 0,06b*	15,30 $\pm$ 1,29y*	17,16 $\pm$ 0,61a	17,95 $\pm$ 0,47yz		
Ác. Linoléico	1,86 $\pm$ 0,14a	1,90 $\pm$ 0,06x	2,62 $\pm$ 0,10a	3,51 $\pm$ 1,04y	5,15 $\pm$ 0,07b	5,25 $\pm$ 0,08y		
Ác. Linolénico	1,84 $\pm$ 0,34a	2,05 $\pm$ 0,57x	0,65 $\pm$ 0,06b	0,83 $\pm$ 0,11y	0,79 $\pm$ 0,04b	0,68 $\pm$ 0,02y		
Ác. Araquidónico	1,35 $\pm$ 0,05a	0,92 $\pm$ 0,25x	0,81 $\pm$ 0,01b	0,61 $\pm$ 0,06xy	1,03 $\pm$ 0,11ab	1,17 $\pm$ 0,02xz		
Ác. Eicosapentaenoico	7,11 $\pm$ 0,73a	7,15 $\pm$ 0,25x	5,01 $\pm$ 0,35b	4,25 $\pm$ 0,33y	2,95 $\pm$ 0,14c	2,92 $\pm$ 0,08z		
Ác. Docosahexaenoico	16,82 $\pm$ 0,89a	17,48 $\pm$ 1,07x	20,98 $\pm$ 0,28a	17,38 $\pm$ 2,40x	18,16 $\pm$ 0,50a	16,78 $\pm$ 0,78x		

Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre distintas poblaciones (letras a,b,c. para fertilidad baja; letras x,y,z. para fertilidad alta). Asteriscos, indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre fertilidad baja y alta para una misma población.

Tabla 5 . Resumen de ácidos grasos encontrados en la fracción de lípidos polares en gónada de tres poblaciones de puye (*Galaxias maculatus*). Los resultados son expresados como media y desviación estándar del % de área.

ÁCIDOS GRASOS	LÍPIDOS POLARES											
	HEMBRAS SILVESTRES				HEMBRAS F1				HEMBRAS F2			
	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA	FERT. BAJA	FERT. ALTA		
SAFA	44,93 ± 2,29a	51,47 ± 1,58x	54,89 ± 3,74b*	59,18 ± 2,70y*	47,26 ± 1,24a	44,28 ± 1,18z	24,83 ± 2,72a	26,37 ± 0,28x	27,77 ± 0,62a	29,42 ± 1,25x	26,41 ± 4,51a	29,46 ± 1,48x
MUFA	30,24 ± 5,01a	22,16 ± 1,30x	17,33 ± 3,12a	11,40 ± 3,95xy	26,33 ± 5,75a	26,25 ± 2,66xz	34,05 ± 1,50a	36,32 ± 3,19x	36,74 ± 4,56a	44,13 ± 3,85xy	29,71 ± 5,39a	25,94 ± 0,17xz
Ác. Palmítico	11,95 ± 1,14a	13,36 ± 0,29x	15,73 ± 0,39a	17,21 ± 0,91xy	14,89 ± 2,0a*	19,52 ± 0,03y*	0,93 ± 0,03a	0,77 ± 0,10x	1,06 ± 0,02a	1,21 ± 0,53x	1,75 ± 0,37a	1,53 ± 0,05x
Ác. Linoléico	1,43 ± 0,15a	3,89 ± 3,80x	3,81 ± 0,31a	1,30 ± 0,55x	4,08 ± 3,55a	5,64 ± 1,33x	1,80 ± 0,04a	1,36 ± 0,42x	1,73 ± 1,33a	0,94 ± 0,09x	3,30 ± 1,61a	1,08 ± 0,01x
Ác. Araquidónico	4,93 ± 1,10a	3,51 ± 0,97x	1,44 ± 0,08b	1,43 ± 0,67x	1,80 ± 0,23b	1,40 ± 0,03x	Ác. Eicosapentaenoico	17,24 ± 3,11a	10,46 ± 2,73x	6,35 ± 0,41b	11,91 ± 1,66x	10,26 ± 0,11x

Letras distintas indican diferencias significativas (P<0.05) entre distintas poblaciones (letras a,b,c. para fertilidad baja; letras x,y,z. para fertilidad alta). Asteriscos, indican diferencias significativas (P<0.05) entre fertilidad baja y alta para una misma población.

## VII. DISCUSIÓN

En la presente investigación, los ácidos grasos saturados (SAFA) son los de mayor presencia en los músculos y gónadas en hembras de las distintas poblaciones, seguidos por los ácidos grasos Poliinsaturados (PUFA) y los ácidos grasos Monoinsaturados (MUFA). Por el contrario, en la investigación realizada por De Silva *et al.*, (1998) se encontró una mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en el músculo de ejemplares adultos de *Galaxias maculatus* de distintas poblaciones silvestres de Australia. Pickova *et al.* (1999) también encontró mayor proporción de PUFA en huevos de *Salmo salar*. En estos términos, los mayores niveles de ácidos grasos saturados y poliinsaturados en los lípidos neutros y polares en músculo y gónada de puye hallados en esta investigación, demostraría importantes roles de estos ácidos grasos, posiblemente relacionados con fines energéticos, mantención de la fluidez de membranas, formación de tejidos y como precursores de compuestos fisiológicamente activos (Watanabe, 1982; Corraze *et al.*, 1991; Pickova *et al.*, 1999). Sin embargo, una desventaja de los huevos con altos contenidos de lípidos y ácidos grasos poliinsaturados, es el acrecentamiento del riesgo de peroxidación dado por el incremento de los radicales libres, lo cual es de vital importancia en aguas con bajas temperaturas y altos niveles de oxígeno disuelto donde se desarrollan las ovas de salmónidos (Pickova *et al.* 1999). En el puye, la cantidad de oxígeno

disuelto durante el desarrollo embrionario es alta, ya que, ocurre en el medio extra acuático (Mitchell, 1989)

Estudios realizados por Navas *et al.* (1997) en huevos de lubina y por Ibeas *et al.* (2000) en dorada encontraron mayoritariamente ácido Palmítico, ácido Linoléico y ácido Docosahexaenoico. Dentro de las fracciones de lípidos neutros y polares existe una serie de ácidos grasos predominantes en músculo y gónadas de hembras de alta y baja fertilidad, ya sea para las poblaciones silvestres, F1 y F2. En el caso de los ácidos saturados (SAFA) es el ácido Palmítico (16:0), lo que concuerda con lo encontrado por Czesny *et al.* (2000) quien informó que el ácido Palmítico es el ácido saturado predominante en la fracción de lípidos neutros en los huevos de esturión, sin tener en cuenta la especie u origen de la población. Por otro lado, Ashton *et al.* (1993) indicó que el ácido Palmítico es el ácido saturado más abundante en huevos y otros tejidos de la mayoría de los peces. En el caso de los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), el ácido Oléico (18:1n-9), es el que presenta los mayores porcentajes de área, esto coincide con lo encontrado por Czesny *et al.* (2000) en ovas de esturión, y en el caso de los ácidos poliinsaturados (PUFA), el ácido Linoléico (18:2n-6), Linolénico (18:3n-3), Araquidónico (20:4n-6), Eicosapentaenoico (20:5n-3) y Docosahexaenoico (22:6n-3) son los ácidos que presentan mayores porcentajes de área. Estos ácidos grasos coinciden completamente con los descritos por De Silva *et al.* (1998) en un estudio realizado en la composición de ácidos grasos en músculo de ejemplares adultos de tres poblaciones distintas de *Galaxias maculatus* en Australia. Los ácidos grasos poliinsaturados son importantes, ya que, algunos de ellos actúan

como precursores de los eicosanoides (Bell *et al.*, 1986; Navas, 1997; De Silva *et al.*, 1998; Asturiano *et al.*, 2000). Sin embargo, los eicosanoides derivados del ácido araquidónico tienen mayor actividad biológica que los derivados del ácido eicosapentaenoico (Navas, 1997). Se sabe que el ácido Eicosapentaenoico (EPA) y Araquidónico (ARA) son importantes por el rol que juegan como precursores en la síntesis de prostaglandinas, las cuales regulan el estado terminal del ciclo reproductivo, ovulación y desove (Jobling, 1994), siendo nocivos altos niveles de ácido Eicosapentaenoico sobre el ácido Araquidónico, ya que, el ácido Eicosapentaenoico se desempeña como substrato competidor del ácido Araquidónico en la síntesis de prostaglandinas (Carrillo *et al.*, 1999; Pickova *et al.*, 1999). Es por esto, que el ácido Araquidónico se ha vinculado a la calidad y sobrevivencia de salmones del Atlántico no anádromos (Pickova *et al.*, 1999) y de peces planos (Furuita *et al.*, 2000; Izquierdo *et al.*, 2000). En la presente investigación, si bien no se encontraron diferencias significativas entre gónadas de hembras silvestres, F1 y F2 para el ácido araquidónico (20:4n6), se denota una disminución de los porcentajes de área en hembras de alta fertilidad. Lo que hace presumir que las hembras de alta fertilidad utilizan mayoritariamente este ácido graso en el proceso reproductivo.

Los porcentajes de ácido Docosahexaenoico (DHA) obtenidos son mayores que los porcentajes de ácido Eicosapentaenoico (EPA), tanto para ejemplares silvestres, F1 y F2, lo que concuerda con lo descrito por Bromage & Roberts (1995) en salmón y bacalao, donde la proporción DHA/EPA en estas dos especies es aproximadamente de 2:1. En la fracción de lípidos neutros en gónadas de

hembras de baja y alta fertilidad de las distintas poblaciones, los niveles de DHA presentados en esta investigación son mayores que los registrados en huevos de salmón del Atlántico (Pickova *et al.*, 1999) y esturión (Czesny *et al.* 2000), lo que se puede atribuir a la dieta suministrada a los puyes, la cual es utilizada en la primera alimentación de salmones, donde los porcentajes de lípidos son diferentes a los encontrados en la dieta para reproductores. En cambio, la fracción de lípidos neutros de músculo de hembras de distintas poblaciones, ya sea, de baja o alta fertilidad, mostró niveles inferiores de DHA a los registrados por De Silva *et al.* (1998) en tres poblaciones de *Galaxias maculatus*, lo cual se puede atribuir a la variabilidad de las poblaciones, a los distintos tipos de dietas que estos consumen y a su digestión. Por otro lado, Pickova *et al.* (1999) en *Salmo salar* no encontró diferencias significativas ( $P>0.05$ ) en los porcentajes de área de DHA, en huevos de ejemplares silvestres y de cautiverio. Por otro lado, en el presente estudio, si bien se encontraron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) en el porcentaje de área de DHA entre las distintas poblaciones, ya sea para baja y alta fertilidad, estas no presentan un comportamiento uniforme que haga presumir alguna relación con los niveles de fertilidad, pero si pueden ser atribuidas a las condiciones de cautiverio en que se mantuvieron las distintas poblaciones.

Los mayores niveles de ácido Eicosapentaenoico (EPA) se evidenciaron en gónadas de hembras silvestres de baja y alta fertilidad, presentando una reducción en las poblaciones F1 y F2. Un comportamiento similar se pudo apreciar en la fracción de lípidos neutros de huevos de *Salmo salar* (Pickova *et al.*,

1999). Por el contrario en esturión (Czesny *et al.*, 2000), se presentaban mayores niveles de EPA en ovas de cultivo.

En diversos experimentos realizados se ha llegado a la conclusión de que la calidad de los huevos y larvas están directamente relacionadas con su contenido en ácidos grasos de la serie n-3, en particular en ácido Docosahexanoico (DHA) y Eicosapentaenoico (EPA) (Navas, 1997). Sin embargo, en dorada no se registró una correlación entre el contenido de ácidos grasos de la serie n-3 de los huevos y su calidad, ya que para las concentraciones altas de los ácidos grasos de la serie n-3 se observaba una reducción de las tasas de eclosión (Izquierdo *et al.*, 2000). Este hecho indica que el contenido total de ácidos grasos de la serie n-3 en los huevos no pueden ser tomados como un criterio único de su viabilidad.

Por otro lado, en el presente estudio la fracción de lípidos neutros es mayor que la fracción de lípidos polares, lo que concuerda con lo descrito por Rodríguez *et al.* (1998) donde establece que los peces en sus tejidos poseen más lípidos neutros que polares, contrastando con los peces de aguas frías como el bacalao o el halibut, los que contienen dos veces más lípidos polares que neutros. En el mismo contexto, Mokoginta *et al.* (1998) indica que en ovas de catfish la fracción de lípidos neutros es mayor que la de lípidos polares, lo que indica que los lípidos, sobre todos los lípidos neutros, son la fuente de energía más importante durante la embriogénesis. Del total de lípidos en el cuerpo, el 20% se sitúa en las gónadas y el resto se utiliza como forma de energía (Sargent *et al.*, 1997). Así, el porcentaje de lípidos PUFA depositados inevitablemente en las gónadas excede las reservas

de grasas del pez y se depositan selectivamente en las gónadas (Sargent *et al.*, 1997). Se ha informado que varios peces incluso el salmón coho movilizan las reservas de lípidos para el desarrollo gonadal (Sargent *et al.*, 1997) donde la vitelogenina es el transportador de lípidos al ovario y sus reservas pueden provenir del hígado del pez.

Las hembras de las poblaciones F1 y F2 de alta y baja fertilidad mostraron mayores niveles de ácido oléico que las hembras silvestres, lo que concuerda con lo descrito por Ashton *et al.* (1993) donde los salmones chinook cultivados mostraron mayores proporciones de ácido oléico en los lípidos neutros de las ovas en comparación con sus contrapartes silvestres. Lo que hace suponer que este ácido graso no tendría incidencia en la alta o baja fertilidad que puedan presentar los ejemplares de *Galaxias maculatus*.

En general, al realizar una comparación entre los ácidos grasos totales encontrados en la fracción de lípidos neutros y polares en gónadas y músculos de hembras de baja y alta fertilidad de las distintas poblaciones, se puede decir que sí existen diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las distintas poblaciones, pero la gran mayoría de estos ácidos grasos no sufren cambios drásticos en sus porcentajes, lo que indicaría que la fertilidad no estaría influenciada por la composición de ácidos grasos en las gónadas y músculos, lo que hace presumir que los porcentajes de fertilidad en esta especie están influenciados por otros factores que podrían ser: el ambiente en que se desarrollan los reproductores, la dieta, las condiciones de cultivo, sobremadurez, etc... Sin embargo, el ácido

araquidónico puede ser considerado uno de los componentes que influyen los procesos en la reproducción del puye.

Si bien, esta es una primera aproximación de la composición de ácidos grasos en gónadas y músculo de puye, son necesarias nuevas investigaciones para establecer los niveles de variabilidad de los ácidos grasos, producto de la dieta, ambiente y manejo, los cuales pueden afectar el proceso reproductivo y la fertilidad de los puyes.

## VIII. CONCLUSIONES

- El grupo de ácidos grasos que domina en músculo y gónada de *Galaxias maculatus* de las tres poblaciones, ya sea, de baja y alta fertilidad son los ácidos grasos Saturados, seguido por los ácidos grasos Poliinsaturados y Monoinsaturados
- Los ácidos grasos que presentaron mayores porcentajes de área en músculo y gónadas de las tres poblaciones de *Galaxias maculatus*, ya sea, con baja y alta fertilidad, fueron el ácido Palmítico, Oléico y Docosaheenoico.
- Se observó una mayor proporción de la fracción de lípidos neutros que polares, lo que concuerda con lo reportado para algunas especies de aguas marinas.
- Los ácidos grasos estudiados en músculo y gónadas no mostraron variaciones que pudieran establecer una diferencia entre las distintas poblaciones de *Galaxias maculatus*.
- No existe relación entre la composición de ácidos grasos y la fertilidad de hembras de *Galaxias maculatus*.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

*Abi-ayad, S-M.; Mélard, C. & Kestemont, P. 1995. Effect of n-3 fatty acid in european perch (Perca fluviatilis) broodstock diet on survival of larvae after stress tests. LARVI '95-FISH & SHELLFISH LARVICULTURE SYMPOSIUM. European Aquaculture Society, Special Publication, 24: 12-15.*

Aquanoticias. 1999. Puyes en Cultivo. Fundación Chile. Chile. 11 (51): 68-71.

Arratia, G. 1981. Géneros de peces de aguas continentales de Chile. Museo Nacional de Historia Natural. Publicación Ocasional 34:3-108.

Ashton, H.; Farkvam, D. & March, B. 1993. Fatty acid composition of lipids in the eggs and alevins from wild and cultured chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 50(3): 648-655.

Asturiano, J.F; Sorbera, L.A; Carrillo M; Zanuy, S; Ramos, J; Navarro, J.C & Bromage, N. 2000. Reproductive performance in male European sea bass

(*Dicentrarchus labrax*, L) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture*, 194: 173-190.

Bell, M.V; Henderson, R.J. & Sargent, J.R. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 83B: 711-719

Blanco-Cachafeiro, M.C. 1995. *La Trucha Cría Industrial*. Ediciones Mundi Prensa. España. 503 pp.

Bromage, N. & Roberts, R. 1995. *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Ed. Blackwell Science Ltd. 424 pp.

Campos, H. 1970. *Galaxias maculatus* (Jenyns) en Chile, con especial referencia a su reproducción. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Santiago-Chile*. 31:5-20.

Campos, H.; Ruiz, V.; Gavilan J. F. & Alay, F.1993. *Peces del Río Biobío*. Eula. Chile. 100. pp

Carrillo, M.; Zanuy, S.; Oyen, F.; Cerdá, J.; Navas, J. M. & Ramos, J. 1999. Some criteria of the quality of the progeny as indicators of physiological broodstock fitness. Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification. Proceedings of the seminar of the CIHEAM Network

on Technology of Aquaculture in the Mediterranean (TECAM), jointly organized by CIHEAM and FAO, Zaragoza (Spain), 47: 61 - 71.

Corraze, G.; Larroquet, L.; Maise, G.; Blanc, D. & Kaushik, S., 1991. Effect of temperature and of dietary lipid source on female broodstock performance and fatty acid composition of the eggs of rainbow trout. *Fish Nutrition in Practice*, Biarritz (France). 61–66.

Czesny, S.; Dabrowski, K.; Christensen, J.; Eenennman, J. V. & Doroshov, S., 2000. Discrimination of wild and domestic origin of sturgeon ova based on lipids and fatty acid analysis. *Aquaculture*, 189: 145–153.

Dantagnan, P. 2003. Requerimientos de ácidos grasos esenciales en larvas de puye (*Galaxias maculatus*): Efecto de la salinidad. Tesis Doctoral. Universidad de la Palma de Gran Canaria. España, 212pp.

De Silva S.S.; Gunasekera R.M.; Austin C.M.; Collins R.; Ingram B.A. & Austin C.M. 1997. Changes in fatty acid profile of the Australian shortfin eel in relation to development. *Journal of Fish Biology*. 50: 992-998.

De Silva S.S.; Gunasekera R.M.; Austin C.M. & Allison G. 1998. Habitat related variations in fatty acid of catadromous *Galaxias maculatus*. *Aquat. Livin Resour.* 11:379-385.

Devauchelle, N.; Brichon, G.; Lamour, F. & Stephan, G. 1982. Biochemical composition of ovules and fecund eggs of sea bass (*Dicentrarchus Labrax*), Sole (*Solea vulgaris*) and Turbot (*Scophthalmus maximus*). In: Proceedings of a Introduction Symposium in Reproduction Physiology Fish Wageningen, The Netherlands: 155–157.

Dhert, P.; Lim, L. C.; Lavens, P.; Chao, T. M.; Chou, R. & Sorgeloos, P., 1991. Effect of dietary essential fatty acids on egg quality and larviculture success of the greasy grouper (*Epinephelus tauvina*, F.): Preliminary results. LARVI '91–FISH & CRUSTACEAN LARVICULTURE SYMPOSIUM. European Aquaculture Society, Special Publication, 15: 58–62

Fernández-Palacios, H.; Izquierdo, M.S.; Robaina, L.; Valencia, A.; Salhi, M. & Vergara, J. 1995. Effect of n-3HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 132:325-337.

Folch, J., M. Lees & G. M. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of the total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 276: 497–509.

Fraser, A. J.; Sargent, J. R.; Gamble, J. C. & MacLachlan, P., 1987. Lipid class and fatty acid composition as indicators of the nutritional condition of larval Atlantic herring. *American Fisheries Society Symposium*, 2: 129–143.

Furuita, H.; Tanaka, H.; Yamamoto, T.; Shiraishi, M. & Takeuchi, T. 2000. Effects of n–3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 187: 387–398.

Grethe, R. 1999. Importancia del Alimento para Reproductores en la Producción de Huevos y Alevines. *En Profundidad*, 7(2): 91–97.

Ibeas, C.; Rodríguez, C.; Badía, P.; Cejas, J. R.; Santamaría, F. J. & Lorenzo, A., 2000. Efficacy of dietary methyl esters of n–3 HUFA by gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Aquaculture*, 190: 273–287.

Izquierdo M.S.; Fernández-Palacios H. & Tacon A.G.J. 2000. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 197: 25-42.

Jobling, M., 1994. *Fish Bioenergetics*. First Edition. Published by Chapman & Hall, 2–6 Boundary Row, London SE1 8HN, UK. 309 pp.

Juaneda, P. & Rocquelin, G. 1985. Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat Herat using silica cartridges. Institut National de la Recherche Agrochimique Station de Recherches sus la Qualite des Aliments de l` Homme. Lipids. Francia, 20: 40-41

Kjorsvik, E.; Mangor-Jensen, A. & Holmesjord, I. 1990. Quality egg in fishes. Advances in Marine Biology. 26:71-97.

Mayzaud, R. O.; Mayzaud, P. & Audet, C., 1998. Changes in lipid classes and trypsin activity during the early development of brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), fry. Aquaculture Research. 29: 137–152.

Mokoginta, I.; Takeuchi, T.; Moeljohardjo, D.S.; Sumawidjaja, K & Fardiaz, D. 1998. The effect of different ratios of n-6/n-3 fatty acids in broodstock diets on egg quality of catfish, *Clarias batrachus*. Asian Fisheries Science. 11: 157-168.

Morrison, W. & Smith, J. 1986. Preparación de Metil - Ester de Ácidos Grasos. Lipids 27: 114-120

Navas J.M.; Bruces M.; Thrush M.; Fernández B.M.; Bromage N.; Zanuy S.; Carrillo M., Bell J.G., & Ramos J. 1997. The impact of seasonal alteration in

the lipid composition of broodstock diet on egg quality in the European sea bass. *Journal of Fish Biology*, 51: 760-773.

Parrish, C. C.; Yang, Z.; Wells, J. S.; Castell, J. D. & Brown, J. A., 1995. Egg fatty acid composition of captive Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in relation to larval survival. LARVI '95–FISH & SHELLFISH LARVICULTURE SYMPOSIUM. European Aquaculture Society, Special Publication, 24: 30–33.

Pickova, J.; Kiessling, A.; Petterson, A. & Dutta, P. C., 1999. Fatty acid and carotenoid composition of eggs from two nonanadromous Atlantic salmon stocks of cultured and wild origin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21: 147–156.

Planas, M., Estévez, A. & Garrido, J. L., 1991. Energy metabolism during early ontogenesis of turbot (*Scophthalmus maximus*) and the effect of starvation. LARVI '91–FISH & CRUSTACEAN LARVICULTURE SYMPOSIUM. European Aquaculture Society, Special Publication, 15: 210–212.

Prat, F. 2001. Oogénesis y Calidad del Huevo. Segundas Jornadas teórico-Prácticas de Acuicultura: Patología y Biotecnología de la Reproducción. España. 143-152

Rainuzzo, J. R.; Reitan, K. & Olsen, Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, 155: 103–115.

Rodríguez, C.; Cejas, J. R.; Martín, M. V.; Badía, P.; Samper, M. & Lorenzo, A., 1998. Influence of n–3 highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) and on egg quality. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 177–187.

Sargent, J. R.; McEvoy, L. A. & Bell J. G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155: 117–127.

Steffens, W. 1987. Principios Fundamentales de la Alimentación de los Peces. Editorial Acribia. España. 275 pp.

Vega R.; Bariles J.; Bórquez A.; Dantagnan P.; Mardones A. & Valdebenito I. 1999. Biología y Ecología del Puye *Galaxias maculatus*. Una Revisión. Facultad de acuicultura y Cs. Veterinarias, Depto de Ciencias de la Acuicultura. Universidad Católica de Temuco. 19 pp.

Washburn, B. S.; Frye, D. J.; Hung, S. O.; Doroshov, S. I. & Conte, F. S., 1990. Dietary effects on tissue composition, oogenesis and reproductive performance of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 90: 179–195.

Watanabe T. 1982. Lipid Nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 73: 5-15.

Wheaton, F. 1993. *Acuacultura. Diseño y Construcción de Sistemas*. A.G.T. Editor. México. 630 pp.