



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL  
NOROESTE, S. C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

**“Importancia de los lípidos en la reproducción y ontogenia  
del pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor*)”**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias**

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
(Orientación en: Acuacultura)

p r e s e n t a

**B e n j a m í n   A p a r i c i o   S i m ó n**

**La Paz, B. C. S., Noviembre-2004**

**Tesis de Maestría en Ciencias en el uso, Manejo y Preservación de los Recursos  
Naturales con Orientación en Acuicultura.**

**COMITÉ TUTORIAL**

Dra. Elena Palacios Mechetnov

Dr. Ilie S. Racotta Dimitrov

Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega

**COMITE REVISOR DE TESIS**

Dra. Elena Palacios Mechetnov

Dr. Ilie S. Racotta Dimitrov

Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega

**JURADO DE EXAMEN DE GRADO**

Dra. Elena Palacios Mechetnov

Dr. Ilie S. Racotta Dimitrov

Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega

Dr. Vicente Gracia López (Suplente)

## Resumen

Para producir larvas de peces con buenos rendimientos, se deben conocer los requerimientos nutricionales de la especie, particularmente en los primeros estadios larvarios. Además, se sabe que la nutrición de los reproductores influye directamente en la calidad de las larvas debido, principalmente, a la cantidad y calidad de lípidos que son transferidos desde la gónada hacia los huevos. El objetivo de este trabajo fue analizar la composición de lípidos en huevos, embriones y larvas de pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor*) con el fin de establecer las bases de los requerimientos nutricionales de lípidos durante el desarrollo larvario del pez blanco. También se determinaron los ácidos grasos en tejidos de reproductores (cerebro, gónada, hígado, músculo y tejido adiposo), tanto en hembras como en machos. Se presentó una alta variación del contenido de ácidos grasos entre los tejidos dada la función particular de cada tejido. En general, se observó una baja concentración de 20:5n-3 (EPA) en los tejidos, indicando que posiblemente este ácido graso está siendo utilizado como precursor de 22:6n-3 (DHA) o con fines energéticos. La gran cantidad de DHA en cerebro es concordante con lo reportado por otros autores sobre la retención de este ácido graso en este tejido. Los ácidos grasos encontrados en hígado concordaron con el contenido de la dieta, a diferencia del músculo en el que se observa un patrón más o menos constante e independiente de la dieta. Se esperaba una mayor acumulación de ácidos grasos en hembras debido al mayor requerimiento energético para el desarrollo gonádico y formación de gametos, pero no hubo diferencias significativas entre ambos sexos. Las hembras tuvieron mayores reservas de varios ácidos en tejido adiposo probablemente para ser transferidos posteriormente a la

gónada. Lo anterior puede indicar que quizás aun no alcanzaban la madurez gonádica. Se observó una mayor cantidad de 20:4n-6 (ARA) en los desoves provenientes de organismos silvestres y una mayor cantidad de DHA en los desoves de organismos cultivados. La dinámica de ácidos grasos en el desarrollo embrionario y larvario mostró una mayor utilización de ácidos grasos saturados y monoinsaturados que de ácidos grasos poliinsaturados, indicando la retención de éstos para funciones específicas. Adicionalmente la retención del ARA en los desoves de organismos cultivados fue mayor que para los silvestres, sugiriendo que ante una deficiencia de éste ácido graso, hubo un mecanismo de regulación para conservarlo. No se obtuvieron correlaciones significativas entre precursores y ácidos grasos esenciales en los desoves de ambos orígenes, lo cual sugiere que en larvas no hay un proceso activo de elongación y desaturación hacia ácidos grasos altamente insaturados (ARA, EPA y DHA) ya sea porque no se tiene la maquinaria enzimática necesaria en estos estadios o bien porque no existe la necesidad debido a los niveles iniciales altos al menos en estadios larvarios tempranos. Sin embargo, en estadios más avanzados en los cuales las larvas fueron alimentadas con *Artemia sp.*, la disminución del DHA es muy notoria, lo cual refleja la carencia de este ácido graso en la dieta. Los resultados del presente trabajo aportan ciertas bases sobre los requerimientos nutricionales del pez blanco tanto en reproductores como en larvas: 1) es probable que se tenga que considerar la suplementación de ARA al menos en caso de reproductores cultivados y de las larvas subsecuentes 2) es necesario definir si hay necesidad de suplementar DHA en estadios larvarios avanzados.

## Abstract

For good performance in the production of fish larvae, nutritional requirements during early developmental stages must be established. In addition, it is well known that broodstock nutrition directly affects larval quality because of the quality and quantity of lipids that are transferred from gonads to eggs. The aim of this study was to determine lipid and fatty acid composition of eggs, embryos, and larvae, to establish the lipid and fatty acid requirements during ontogeny of white fish from Pátzcuaro lake (*Chirostoma estor estor*). The composition of fatty acids was also assessed in brain, gonad, liver, muscle, and adipose tissue in male and female broodstock. A high fatty acid variation between tissues was observed as a result of the tissues specific functions. A low concentration of 20:5n-3 (EPA) was found, possibly as a result of its use as a precursor of 22:6n-3 (DHA) or its use as an energy substrate. The high level of DHA in brain tissue is in accordance with reports by other authors about this fatty acid retention in brain tissue. Fatty acid composition in the liver was similar to that in the diet, in contrast to muscle tissue, which had a stable composition pattern of fatty acids. A higher fatty acid accumulation was expected in females because of energy requirements during development of gonads and formation of gametes, but no significant differences were observed between sexes. A higher accumulation of some fatty acids was observed in female adipose tissue, probably because they will subsequently transferred to the gonads. This could indicate that females had not yet attained full gonad maturation. Eggs from wild organisms had a higher content of 20:4n-6 (ARA) but a lower content of DHA, compared to eggs from cultured organisms. Fatty acid dynamics during larval development show a higher use of saturated and mono-unsaturated fatty acids than polyunsaturated fatty acids, which is in accordance with their retention for specific

functions. Additionally, ARA retention was higher in cultured organisms than wild ones, suggesting that in confronting an ARA deficiency, a regulatory mechanism is operating to conserve it. No significant correlations were found between some essential fatty acids and their fatty acid precursors in eggs of wild or cultured fish, indicating that larvae do not present mechanisms of elongation and desaturation to produce highly unsaturated fatty acids (ARA, EPA, and DHA) because they do not have the enzymatic machinery needed at this stage or because the initial levels were high enough, at least in early stages. Nevertheless, in advanced stages fed on *Artemia*, very low levels of DHA were observed, reflecting the absence of this fatty acid in the diet. The results have practical implications for the nutritional requirements of broodstock and larvae of white fish: (1) It is probably necessary to supplement ARA in cultured broodstock and the resulting larvae; (2) The need for supplementation with DHA in advanced larval stages must be defined.

## **DEDICATORIAS**

*A mi esposa e hijo por estar siempre a mi lado, por enseñarme y aprender tantas cosas juntos, con todo mi amor.*

**ANGÉLICA PÉREZ JUÁREZ Y SAMUEL IAÍN APARICIO PÉREZ**

*A mis abuelitos cuya motivación ha sido determinante para seguir siempre adelante*

**OFELIA OCHOA Y ROLANDO APARICIO / TECLA ZAMORA Y FERNANDO SIMÓN**

*A mis Padres por su gran esfuerzo y motivación, por apoyarme incondicionalmente en todas mis decisiones*

**MERCEDES SIMÓN ZAMORA Y JUAN APARICIO OCHOA**

*A mis hermanos de quienes he recibido siempre su invaluable apoyo y cariño*

**DIANA AIDA, NORA TONANTZÌN Y JUAN**

*A mi familia por el gran apoyo y motivación que de una u otra forma inspiraron confianza y seguridad en mi mismo*

**FAMILIA APARICIO OCHOA, SIMÓN APARICIO Y PÉREZ JUÁREZ**

*En memoria de quien me inculcó verdaderos valores y de quien, con su ejemplo, aprendí a ver siempre hacia adelante*

**ROLANDO APARICIO ALCAUTER†**

## AGRADECIMIENTOS

A los proyectos cuyo financiamiento permitió la elaboración y conclusión de esta tesis: "Optimización del cultivo intensivo de pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor*): Importancia de la capacidad osmorreguladora. (Proyecto Fondos Mixtos Michoacán-CONACYT **MICH-2003-C01-12002**), "Evaluación de los requerimientos nutricionales del pez blanco de Pátzcuaro para desarrollar su cultivo" (Proyecto SEP-Conacyt **MICH-2003-C01-12314**), "Desarrollo de las bases técnicas y científicas para el cultivo de pescado blanco de Chapala (*Chirostoma promelas*) y Pátzcuaro (*Chirostoma estor*)". (Proyecto **SAGARPA-CONACYT 2003-C01-261**).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), así como a la dirección de posgrado del **CIBNOR** por las becas otorgadas para la realización de este trabajo.

A la Dirección de Posgrado del CIBNOR a cargo de la **Dra. Thelma R. Castellanos** y a **Osvelia Ibarra, Leticia González, y Beatriz Gálvez** por su permanente disponibilidad y su trato siempre amable al atender mis dudas.

A la **Dra. Elena Palacios Mechetnov** por formarme en el análisis de lípidos y ácidos grasos, especialmente por el enorme apoyo y motivación durante el desarrollo de la tesis y sin el cual no hubiese sido posible su conclusión, gracias por el esfuerzo y la dedicación aportados a esta tesis.

Al **Dr. Ilie Racotta Dimitrov** por el gran apoyo recibido durante mi estancia en la ciudad de Morelia y por sus importantes aportaciones y sugerencias para la realización de este trabajo.

A la **Dra. Bertha O. Arredondo** cuyas aportaciones y sugerencias hacia el trabajo permitieron la oportuna conclusión del mismo.



Al **Dr. Carlos Martínez Palacios** por las facilidades otorgadas para la realización de la estancia en el Instituto de Investigación sobre Recursos Naturales (INIRENA) y por el apoyo prestado durante la obtención de las muestras tanto en campo como en el laboratorio.

A la **Dra. Mayra Toledo** por su permanente apoyo y la atenta aclaración a mis dudas durante la estancia en el INIRENA.

Especialmente al personal del laboratorio de acuicultura del INIRENA (**Gisela, Maru, Tzitziqui, Lidia, Dafne, Antonia, Mari Carmen, Alex y Alejandra, Jesús, Rafael V., Rafael D., Eduardo y Lázaro**) por su ayuda en la solución de problemas prácticos en el acondicionamiento del cultivo embrionario-larvario en laboratorio, así como en la obtención de las muestras en campo, por su permanente disponibilidad para aclarar mis dudas y especialmente por brindarme su amistad.

A la **comunidad de pescadores del Lago de Pátzcuaro**, gracias por su apoyo y amabilidad, sin su ayuda hubiera sido imposible la obtención de los desoves silvestres.

A la **M en C. Olivia Arjona** por su invaluable apoyo en el procesamiento de las muestras en el laboratorio de lípidos del CIBNOR, por enseñarme el análisis de lípidos por IATROSCAN y por hacer del trabajo en laboratorio una experiencia muy agradable con su compañía.

A **Miguel Ángel Hurtado** por el apoyo prestado en la aclaración de dudas y en especial por su amistad.

A **Angélica Pérez** por su paciencia y dedicación al instruirme en la separación y análisis de ácidos grasos por CG/EM y sobre todo por su compañía.

A **Horacio Sandoval y Manuel Melero** del laboratorio de cómputo por el enorme apoyo, el asesoramiento técnico y su trato siempre amable al atender mis dudas.

*“Si las puertas de la percepción se depurasen, todo aparecería a los hombres como realmente es: infinito. Pues el hombre se ha encerrado en sí mismo hasta ver todas las cosas a través de las estrechas rendijas de su caverna”*

*William Blake*

**ÍNDICE GENERAL**

|  |    |
|--|----|
| Resumen  |    |
| Abstract   |    |
| 1. Introducción  | 1  |
| 2. Antecedentes  | 5  |
| 2.1. Lípidos y ácidos grasos: estructura y nomenclatura          | 5  |
| 2.2. Ácidos grasos y clases de lípidos.                          | 6  |
| 2.3. Ácidos grasos esenciales: dulceacuícolas vs. marinos        | 12 |
| 3. Justificación   | 16 |
| 4. Hipótesis   | 18 |
| 5. Objetivos   | 19 |
| 6. Material y Métodos  | 20 |
| 6.1. Ensayos preliminares  | 20 |
| 6.2. Primer estudio: Tejidos de reproductores silvestres         | 20 |
| 6.3. Segundo estudio: Ontogenia de silvestres y cultivados       | 21 |
| 6.3.1. Desoves de organismos cultivados                          | 21 |
| 6.3.2. Desoves de organismos silvestres                          | 22 |
| a. Muestreos de huevos y embriones                               | 23 |
| 6.3.3. Cultivo larvario y de alimento vivo                       | 24 |
| a. Obtención de larvas   | 25 |
| 6.3.4. Determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases | 26 |
| 6.3.5. Determinación de clases de lípidos por Iatroscan          | 27 |
| 6.3.6. Muestreo y composición de ácidos grasos del alimento      | 28 |
| 7. Análisis estadístico  | 31 |
| 8. Resultados  | 32 |
| 8.1. Primer estudio: Tejidos de reproductores silvestres         | 32 |
| 8.1. a. Cerebro  | 32 |
| 8.1. b. Gónada   | 35 |
| 8.1. c. Hígado   | 38 |
| 8.1. d. Músculo  | 41 |
| 8.1. e. Tejido adiposo   | 44 |

|  |     |
|--|-----|
| 8.2. Segundo estudio: Desarrollo embrionario y larvario                              | 47  |
| 8.2.1. Diferencias entre silvestres y cultivados                                     | 47  |
| a. Ácidos grasos en la fracción neutra   | 58  |
| b. Ácidos grasos en la fracción polar  | 50  |
| 8.2.2. Desarrollo larvario de organismos cultivados                                  | 55  |
| a. Ácidos grasos en la fracción neutra   | 55  |
| b. Ácidos grasos en la fracción polar  | 55  |
| 8.2.3. Variación de lípidos durante el desarrollo                                    | 60  |
| 8.2.4. Correlaciones entre ácidos grasos esenciales                                  | 64  |
| 9. Discusión   | 67  |
| 9.1. Ácidos grasos en la dieta y su influencia sobre reproductores de pez blanco     | 67  |
| 9.2. Composición de ácidos grasos en tejidos   | 72  |
| 9.2.1. Diferencias entre sexos   | 78  |
| 9.3. Composición lipídica en huevos  | 82  |
| 9.4. Dinámica de lípidos durante el desarrollo                                       | 89  |
| 9.5. Síntesis durante lecitotrofia   | 93  |
| 9.6. Influencia de dieta sobre larvas de cultivo                                     | 95  |
| 10. Conclusiones   | 99  |
| 11. Referencias  | 101 |
| 12. Anexos   | 115 |
| 12.1. ANEXO A: Ubicación taxonómica del pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ) | 116 |
| 12.2. ANEXO B: Cultivo de alimento vivo ( <i>Artemia sp.</i> )                       | 117 |
| 12.3. ANEXO C: Cultivo larvario de pez blanco  | 118 |
| 12.4. ANEXO D: Análisis de ácidos grasos   | 119 |

**ÍNDICE DE FIGURAS**

| <b>NÚMERO</b> | <b>TÍTULO</b>   | <b>PÁGINA</b> |
|---------------|---|---------------|
| 1             | Principales grupos de lípidos.  | 6             |
| 2             | Elongación y desaturación de ácidos grasos insaturados  | 13            |
| 3             | Diagrama de flujo de la extracción de lípidos y ácidos grasos.  | 30            |
| 4             | Proporción (%) de triglicéridos durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).         | 61            |
| 5             | Proporción (%) de monoglicéridos durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).        | 61            |
| 6             | Proporción (%) de diglicéridos durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).          | 62            |
| 7             | Proporción (%) de ésteres de colesterol durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ). | 62            |
| 8             | Proporción (%) de colesterol durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).            | 63            |
| 9             | Proporción (%) de fosfolípidos totales durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).  | 63            |
| 10            | Correlación entre los ácidos grasos 20:4n-6 y 18:2n-6 en los desoves de organismos cultivados.  | 65            |
| 11            | Correlación entre los ácidos grasos 22:6n-3 y 20:5n-3 en los desoves de organismos cultivados.  | 65            |
| 12            | Correlación entre los ácidos grasos 20:4n-6 y 18:2n-6 en los desoves de organismos silvestres.  | 66            |
| 13            | Correlación entre los ácidos grasos 22:6n-3 y 20:5n-3 en los desoves de organismos silvestres.  | 66            |
| 14            | Mecanismo de desaturación y síntesis de DHA   | 71            |

**ÍNDICE DE TABLAS**

| <b>NÚMERO</b> | <b>TÍTULO</b>   | <b>PÁGINA</b> |
|---------------|---|---------------|
| <b>I</b>      | Clasificación de ácidos grasos  | <b>10</b>     |
| <b>II</b>     | Trabajos previos de análisis de lípidos y ácidos grasos (AG) en especies marinas y dulceacuícolas.  | <b>11</b>     |
| <b>III</b>    | Número de muestreos y características de los estadios a obtener durante el desarrollo embrionario y larvario del pez blanco                           | <b>25</b>     |
| <b>IV</b>     | Proporción (%) de ácidos grasos totales en los alimentos utilizados en ambos experimentos (plancton, nauplios y adultos de <i>Artemia</i> y rotíferos | <b>29</b>     |
| <b>V</b>      | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el cerebro de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).   | <b>33</b>     |
| <b>VI</b>     | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el cerebro de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).         | <b>34</b>     |
| <b>VII</b>    | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en la gónada de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).    | <b>36</b>     |
| <b>VIII</b>   | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en la gónada de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).          | <b>37</b>     |
| <b>IX</b>     | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el hígado de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).    | <b>39</b>     |
| <b>X</b>      | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el hígado de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).          | <b>40</b>     |
| <b>XI</b>     | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el músculo de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).   | <b>42</b>     |
| <b>XII</b>    | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el músculo de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).         | <b>43</b>     |

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| <b>XIII</b>  | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el tejido adiposo de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).           | <b>45</b> |
| <b>XIV</b>   | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el tejido adiposo de reproductores de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).                 | <b>46</b> |
| <b>XV</b>    | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra durante el desarrollo embrionario del pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).                      | <b>51</b> |
| <b>XVI</b>   | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra durante el desarrollo embrionario del pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).                            | <b>52</b> |
| <b>XVII</b>  | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción polar durante el desarrollo embrionario del pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).                       | <b>53</b> |
| <b>XVIII</b> | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción polar durante el desarrollo embrionario del pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).                             | <b>54</b> |
| <b>XIX</b>   | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra durante el desarrollo larvario de organismos cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ). | <b>56</b> |
| <b>XX</b>    | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra durante el desarrollo larvario de organismos cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).       | <b>57</b> |
| <b>XXI</b>   | Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción polar durante el desarrollo larvario de organismos cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).  | <b>58</b> |
| <b>XXII</b>  | Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción polar durante el desarrollo larvario de organismos cultivados de pez blanco ( <i>Chirostoma estor estor</i> ).        | <b>59</b> |

**ABREVIATURAS**

**(22:6/20:5):** proporción de DHA (22:6n-3) y EPA (20:5n-3)

**(n-3/n-6):** proporción de ácidos grasos de la serie n-3 y de la serie n-6.

**ARA:** ácido araquidónico

**BHT:** butilhidroxitolueno

**cis:** configuración *cis* de un ácido graso

**DG:** diglicéridos

**DHA:** ácido docosahexaenoico

**DMA:** dimetil acetal

**EPA:** ácido eicosapentaenoico

**MG:** monoglicéridos

**PL:** fosfolípidos

**psu:** unidades prácticas de salinidad

**Sat Index:** índice de saturación

**TG:** triglicéridos

**trans:** configuración *trans* de un ácido graso

**Σ DMA:** sumatoria de dimetil acetal

**Σ HUFA:** sumatoria de ácidos grasos altamente insaturados (4 o más dobles enlaces)

**Σ MUFA:** sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados

**Σ PUFA:** sumatoria de ácidos grasos polinsaturados (2 o más dobles enlaces)

**Σ SAT:** sumatoria de ácidos grasos saturados



## **1. INTRODUCCIÓN**

El pez blanco del Lago de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor*) es una especie de agua dulce que pertenece a la familia *Atherinidae*, en la cual el género *Chirostoma* comprende 18 especies y 6 subespecies (Anexo A). Dicha familia se encuentra representada por unas 150-160 especies, las cuales en su mayoría son marinas y estuarinas (Barbour 1973). Como resultado de la histórica actividad volcánica del altiplano mexicano se presentó una fragmentación y aislamiento genético de las poblaciones nativas, produciendo un alto nivel de endemismo, en particular dentro del género *Chirostoma*, del cual 19 especies habitan los lagos de la parte central de México (Mayden *et al.*, 1992). Como consecuencia, aun siendo estas especies reconocidas como peces de agua dulce, presentan similitudes con atherinidos marinos ya que poseen ancestros marinos en común (Barbour, 1973).

Se han presentado algunas iniciativas en el cultivo del pez blanco que incluyen estudios sobre la biología y el desarrollo embrionario de especies de *Chirostoma* (Solórzano, 1963; Oseguera, 1990; Morelos-López *et al.*, 1994), el ciclo reproductivo natural del pez blanco (Chacón-Torres y Rosas-Monge, 1995; Segura-García, 1997), así como trabajos básicos sobre su cultivo (Rosas, 1970; Rojas y Mares, 1988; Rosas-Monge, 1994). En estos intentos para implementar su cultivo en un principio se había tenido en general baja supervivencia en las etapas larvarias debido al ataque de parásitos como hongos del género *Saprolegnia*, y aunque se ha logrado inhibir el ataque por hongos, y por ende disminuir la mortalidad, manejando salinidades de entre 5 y 10ppm en estas etapas, no se ha logrado optimizar la producción de larvas de buena calidad principalmente debido al desconocimiento de los requerimientos nutricionales, tanto de reproductores como de estos estadios tempranos.

Está bien documentado que entre los componentes de la dieta de los reproductores, los lípidos son los componentes bioquímicos que más afectan la composición de los huevos (Watanabe, 1985). Los lípidos que se transfieren de las hembras hacia los huevos representan las reservas que son usadas por las larvas durante el desarrollo como energía para su metabolismo y como componentes estructurales de membranas celulares. Como consecuencia, el tipo y el contenido de lípidos determinan la calidad de las larvas (Rainuzzo, 1993; Finn, 1994; Sargent, 1995). Por lo anterior, es necesario entender el proceso de transferencia de los componentes energéticos y estructurales (particularmente lípidos) hacia la gónada ya que la cantidad y calidad de lípidos que finalmente serán transferidos hacia los huevos determinarán en gran medida el tamaño de la larva al momento de la primera alimentación y la cantidad de tiempo disponible para encontrar alimento, afectando directamente las tasas de crecimiento y supervivencia. En este sentido la producción de larvas de buena calidad sigue siendo el cuello de botella para la acuicultura de peces, principalmente para el cultivo de especies marinas, lo cual se debe en buena medida al desconocimiento de los procesos arriba mencionados y por ende de los requerimientos nutricionales en etapas críticas del ciclo de vida (reproducción y desarrollo larvario).

Con base a lo anterior, es necesario dejar claro que al servir como fuente de energía metabólica y de componentes estructurales, los lípidos son muy importantes tanto en la reproducción como en el desarrollo (Rainuzzo, 1993; Finn, 1994; Sargent, 1995). En relación a la reproducción de peces, existen variaciones estacionales de sus reservas de lípidos relacionadas principalmente a su ciclo reproductivo, acumulando grandes reservas de lípidos al principio de invierno las cuales disminuyen notablemente en primavera después de haber desovado. Esto resalta el alto costo energético que

representa el desarrollo gonádico y la formación de sus gametos, particularmente en el caso de las hembras, en comparación con los costos de mantenimiento, como osmorregulación y actividad natatoria (Sargent, 1995). Las hembras de la mayoría de las especies de peces pueden llegar a acumular del 10 al 20% de su peso en forma de lípidos almacenándolos como lípidos tanto en tejido adiposo subcutáneo como perivisceral. El 70% de estos lípidos es movilizado durante el desarrollo gonádico y cerca de un 40% es depositado en los huevos, mientras que el 30% restante es utilizado como energía para la realización de esta transferencia (Henderson *et al.*, 1984). En contraste, los machos destinan una mínima cantidad de los lípidos acumulados en la producción de gametos comparado con el alto costo energético de la hembra en la producción de gónada (Henderson *et al.*, 1984).

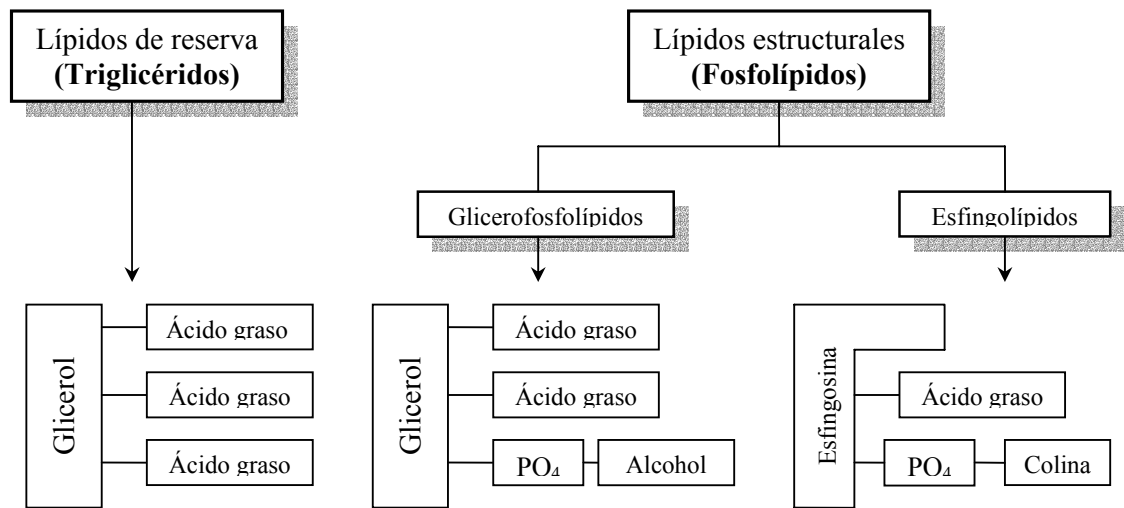
El proceso de transferencia de estas reservas hacia la gónada es conocida como vitelogénesis, por medio del cual se movilizan las reservas de lípidos en el tejido adiposo y son transportadas por la sangre hacia el hígado en donde se combinan con proteínas, para ser transportadas en forma de vitelogenina al ovario y constituir el material de reserva en los huevos, el vitelo. Esta reserva será utilizada durante el desarrollo embrionario y larvario temprano (Sargent, 1995) y la variación de los ácidos grasos que componen el vitelo a lo largo de su desarrollo es un indicador de su utilización y/o conservación, resaltando su importancia funcional y estructural. Ya que la cantidad de triglicéridos determina en buena medida el desarrollo embrionario posterior, se ha sugerido que la cantidad de este componente puede ser considerado como un índice de calidad (Fraser 1989). La primera etapa y a su vez la más crítica en el cultivo de cualquier especie, es lograr la reproducción óptima en cautiverio alcanzando así, una producción masiva de larvas y juveniles de buena calidad, con baja mortalidad

y un mejor crecimiento, basándose particularmente en los requerimientos nutricionales de tal especie.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Lípidos y ácidos grasos: estructura y nomenclatura.**

Los lípidos pueden ser divididos en dos grandes grupos: los fosfolípidos, cuya función básicamente es estructural en las membranas celulares, y los triglicéridos que tienen un papel energético y generalmente son acumulados en el citoplasma en forma de gotas lipídicas. Tanto los triglicéridos como los fosfolípidos están compuestos de ácidos grasos. Tales ácidos grasos están conformados por una cadena (hidrofóbica) que generalmente va de 14 a 22 carbonos y un extremo carboxilo (hidrofílico), que de acuerdo al su número de dobles enlaces son clasificados como saturados (sin dobles enlaces), monoinsaturados (un doble enlace), polinsaturados (dos o más dobles enlaces), los que a su vez pueden ser subdivididos en altamente insaturados (cuatro o más dobles enlaces) Sargent (1995). En general una buena parte de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos (saturados o monoinsaturados) y que son usados como combustibles pueden provenir del alimento, ser sintetizados *de novo* o ínter convertirse entre sí. En contraste, los ácidos grasos que constituyen los fosfolípidos varían en función de: 1) cual es el tipo de fosfolípido al que están incorporados (Soudant *et al.*, 1997a); 2) si se encuentran unidos en la posición 1 o 2 del glicerol del fosfolípido (Figura 1); 3) las condiciones ambientales. Dependiendo de las posibilidades anteriores, cierta proporción de los ácidos grasos unidos a fosfolípidos son ácidos grasos altamente insaturados (HUFA, por sus siglas en inglés) y son considerados como esenciales dado que los HUFAs o sus precursores no pueden ser sintetizados y provienen de manera exclusiva de la dieta (Sargent 1995). En general y por lo anteriormente mencionado es común encontrar mayor proporción de HUFA en los fosfolípidos que en los triglicéridos.



**Figura 1.-** Principales clases de lípidos.

## 2.2. Ácidos grasos y clases de lípidos.

Los ácidos grasos saturados no presentan dobles enlaces a lo largo de su cadena y son utilizados principalmente como depósitos de energía. Los ácidos grasos saturados pueden ser sintetizados *de novo* si es necesario y la mayoría de los organismos controlan su incorporación hacia las membranas celulares (fosfolípidos) y depósitos de energía (triglicéridos) limitándolos a formar entre un 15 y un 35% del total de sus ácidos grasos (Ackman 1989; Ackman y Kean-Howie 1995).

Los ácidos grasos monoinsaturados (por ejemplo: 14:1, 16:1, 18:1n-7, 18:1n-9 y en menor grado 20:1 y 22:1) generalmente ocupan la posición 1 de los fosfolípidos y pueden ser usados como combustibles, además de su papel estructural, sin embargo en el caso particular de los ácidos grasos 20:1 y 22:1, éstos están presentes en la dieta zooplanctónica de la mayoría de las especies de peces carnívoros y son almacenados principalmente bajo forma de triglicéridos y representan la principal fuente de energía metabólica. Debido a la longitud de sus cadenas estos no pueden ser fácilmente almacenados como fosfolípidos (Sargent *et al*, 1979).

Los ácidos grasos polinsaturados (PUFA) están compuestos por cadenas de 16, 18, 20 y 22 carbonos que presentan 2 o más dobles enlaces. Los PUFA con 20 o 22 carbonos son esenciales para los peces marinos, por lo que deben provenir directamente de la dieta. Los peces dulceacuícolas tienen la capacidad de elongar y desaturar ácidos grasos de 18 carbonos de las series n-3 y n-6, para producir PUFA de 20 y 22 carbonos (Ackman y Kean-Howie 1995). Se acostumbra denominar como ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), aquellos ácidos grasos de 20 y 22 carbonos con más de cuatro dobles enlaces (Tabla 1), estos juegan un papel vital durante el periodo de desarrollo embrionario y larvario. El alto contenido de HUFAs en los embriones y larvas de peces es requerido para una rápida proliferación de células y biomembranas, principalmente del cerebro y tejido nervioso (Tocher *et al.*, 1997).

Los ácidos grasos con uno o más dobles enlaces también se clasifican en relación a la posición de su primer enlace a partir de la terminación carboxilo. De esta forma, hay ácidos grasos de la serie n-9, n-6 y n-3 principalmente. En los lípidos del huevo, los HUFA de la familia n-3 constituyen la mayoría de los ácidos grasos, en ocasiones representando hasta el 50% del total de ácidos grasos (Harel *et al.*, 1999). Dentro de los HUFA de la serie n-3, el contenido particular de 22:6n-3 o ácido docosahexanoico (DHA) y el 20:5n-3 o ácido eicosapentaenoico (EPA) son los componentes mayoritarios de los fosfolípidos estructurales, aunque el EPA también es frecuentemente utilizado para fines energéticos (Rainuzzo *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1999). Se ha descrito un alto contenido de DHA en huevos de varias especies de peces (Izquierdo 1996) como el lenguado (*Hippoglossus hippoglossus*) (Falk-Petersen *et al.*, 1989) y la dorada (*Sparus aurata*) cuyos niveles se mantienen altos a lo largo del desarrollo embrionario y larvario al igual que en otras especies (Farkas *et al.*, 2000)

como la carpa (*Cyprinus carpio*) (Chang *et al.*, 1985) lo cual indica una retención particular de este ácido graso, posiblemente por su papel en el desarrollo del sistema nervioso y particularmente de los ojos (Fraser *et al.*, 1988; Rainuzzo *et al.*, 1997). Como consecuencia, algunos autores han propuesto que los niveles de DHA pueden ser usados como un índice de calidad embrionario (Lavens y Sorgeloos, 1991).

El EPA, aunque es un componente mayoritario de los fosfolípidos estructurales, también es frecuentemente utilizado para fines energéticos durante el desarrollo embrionario y larvario (Rainuzzo *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1999). Debido a la importancia relativa de estos dos ácidos grasos, la relación óptima DHA/EPA ha sido estudiada para varias especies con implicaciones funcionales y nutricionales (Watanabe, 1993; Sargent *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1999). En este sentido la relación óptima de DHA/EPA para distintas especies de peces ha sido propuesta como de 2:1 (Sargent *et al.*, 1999).

El 20:4n-6 o ácido araquidónico (ARA), que pertenece a los HUFA de la serie n-6, tiene un importante papel como precursor de prostaglandinas, hormonas de acción parácrina que controlan los procesos de reproducción y desarrollo (Stacey y Goetz, 1982). Además, en algunas especies de peces se ha correlacionado un aumento en la respuesta a condiciones de estrés con un aumento en la producción de eicosanoides a partir del ARA (Bell *et al.*, 1990, 1992; Koven *et al.*, 2001). Sin embargo, dentro de los requerimientos nutricionales de HUFA, el ARA es el menos estudiado. Los resultados en especies como *Psetta maxima* (Castell *et al.*, 1994) y *Sparus aurata* (Bessonart *et al.*, 1999) han dado resultados controversiales, ya que estos autores reportan que un mayor contenido de ARA en la dieta tiene como consecuencia una mayor supervivencia y crecimiento, mientras que otros autores reportan que altos niveles de ARA pueden



causar elevación del cortisol y esto podría resultar en mayor mortalidad si el organismo es sometido a un estrés crónico (Bell y Sargent 2003).

**Tabla I.- Clasificación de ácidos grasos.**

| Nombre            | Estructura | Clasificación  | Serie | Función   |
|-------------------|------------|----------------|-------|---|
| Láurico           | 14:0       | Saturado       | -     | Energética  |
| Palmítico         | 16:0       | Saturado       | -     | Energética  |
| Estearico         | 18:0       | Saturado       | -     | Energética  |
| Araquídico        | 20:0       | Saturado       | -     | Energética  |
| Lignocérico       | 24:0       | Saturado       | -     | Energética  |
| Palmitoleico      | 16:1n-7    | Monoinsaturado | n-7   | Principal componente de fosfolípidos  |
| Oleico            | 18:1n-9    | Monoinsaturado | n-9   | Principal componente de fosfolípidos  |
| Alfa-linoléico    | 18:2n-6    | PUFA           | n-6   | Precursor de ARA (especies dulceacuícolas)<br>Energética                    |
| Alfa-linolénico   | 18:3n-3    | PUFA           | n-3   | Precursor de EPA y DHA (especies dulceacuícolas)                            |
| Gama-linolénico   | 18:3n-6    | PUFA           | n-6   | Precursor de ARA (especies dulceacuícolas)                                  |
| Eicosapentaenoico | 20:5n-3    | PUFA (HUFA)    | n-3   | Estructural fosfolípidos<br>Energética                                      |
| Araquidónico      | 20:4n-6    | PUFA (HUFA)    | n-6   | Estructural fosfolípidos (fosfatidilinositol)<br>Precursor de hormonas      |
| Docosapentaenoico | 22:5n-3    | PUFA (HUFA)    | n-3   | Posible precursor de DHA (especies dulceacuícolas)<br>Estructural y reserva |
| Docosahexaenoico  | 22:6n-3    | PUFA (HUFA)    | n-3   | Estructural (cerebro y ojos)<br>Fluidez de membranas                        |

Aunque se hace mucho énfasis a la importancia funcional y estructural de estos ácidos grasos esenciales, es importante dar atención también a la función energética de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados, para así definir el balance óptimo entre éstos (Sargent *et al.*, 1999).

**Tabla II.- Trabajos previos de análisis de lípidos y ácidos grasos (AG) en especies marinas y dulceacuícolas.**

| NOMRE                  | ESPECIE                          | HÁBITAT  | ALIMENTO                           | ANÁLISIS (AG)                                       | AUTORES                             |
|------------------------|----------------------------------|----------|------------------------------------|---|-------------------------------------|
| <b>Arenque</b>         | <i>Clupea harengus</i>           | marina   | Zooplankton<br>detritus            | En larvas recién<br>eclosionadas                    | Folkvord <i>et al.</i> ,<br>1996.   |
| <b>Lenguado</b>        | <i>Limanda ferruginea</i>        | marina   | Zoobentos<br>detritus              | En larvas de 35<br>días                             | Copeman <i>et al.</i> ,<br>2002.    |
| <b>Dorada</b>          | <i>Sparus aurata</i>             | marina   | Moluscos y<br>crustáceos           | En larvas de 15 y<br>35 días                        | Koven <i>et al.</i> ,<br>2001       |
| <b>Dorada</b>          | <i>Sparus aurata</i>             | marina   | Moluscos y<br>crustáceos           | En larvas de 15<br>días                             | Bessonart <i>et al.</i> ,<br>1999.  |
| <b>Salmónido</b>       | <i>Coregonus muksun</i>          | Dulceac. | Zooplankton                        | De huevo a larvas<br>de 15 días                     | Soivio <i>et al.</i> ,<br>1989.     |
| <b>Jurel dorado</b>    | <i>Pseudocaranx dentex</i>       | Marina   | Crustáceos y<br>moluscos           | En larvas de 15<br>días                             | Watanabe <i>et al.</i> ,<br>1989.   |
| <b>Lenguado</b>        | <i>Scophthalmus maximus</i>      | Marina   | Zoobentos y<br>detritus            | En muestras de<br>huevo                             | Silversand <i>et al.</i> ,<br>1996. |
| <b>Dorada</b>          | <i>Sparus aurata</i>             | Marina   | Moluscos y<br>crustáceos           | En muestras de<br>huevo                             | Almansa <i>et al.</i> ,<br>1999.    |
| <b>Trucha arcoiris</b> | <i>Oncorhynchus mykiss</i>       | Dulceac. | Peces e<br>insectos                | De huevo a larvas<br>recién eclosionadas            | Haliloglu <i>et al.</i> ,<br>2003.  |
| <b>Lenguado</b>        | <i>Paralichthys olivaceus</i>    | Marina   | Peces,<br>crustáceos y<br>moluscos | En larvas de 15<br>días                             | Furuita <i>et al.</i> ,<br>1998.    |
| <b>Lenguado</b>        | <i>Hippoglossus hippoglossus</i> | Marina   | Peces,<br>crustáceos y<br>moluscos | Lípidos en larvas<br>recién eclosionadas            | Rønnestad <i>et al.</i> ,<br>1995.  |
| <b>Corégono blanco</b> | <i>Coregonus albula</i>          | Marina   | Crustáceos e<br>insectos           | Lípidos en huevo                                    | Kaitaranta 1980.                    |
| <b>Trucha arcoiris</b> | <i>Oncorhynchus mykiss</i>       | Dulceac. | Peces<br>pequeños e<br>insectos    | Lípidos en huevo y<br>larvas eclosionadas           | Kaitaranta y<br>Ackman 1981.        |
| <b>Robalo</b>          | <i>Dicentrarchus labrax</i>      | Marina   | Peces y<br>crustáceos              | Lípidos en huevo                                    | Bell <i>et al.</i> , 1997.          |
| <b>Lenguado</b>        | <i>Scophthalmus maximus</i>      | Marina   | Zoobentos y<br>detritus            | Lípidos en huevo                                    | Silversand <i>et al.</i> ,<br>1996. |
| <b>Lenguado</b>        | <i>Solea senegalensis</i>        | Marina   | Zoobentos y<br>detritus            | Lípidos de huevo a<br>larvas recién<br>eclosionadas | Vázquez <i>et al.</i> ,<br>1994.    |

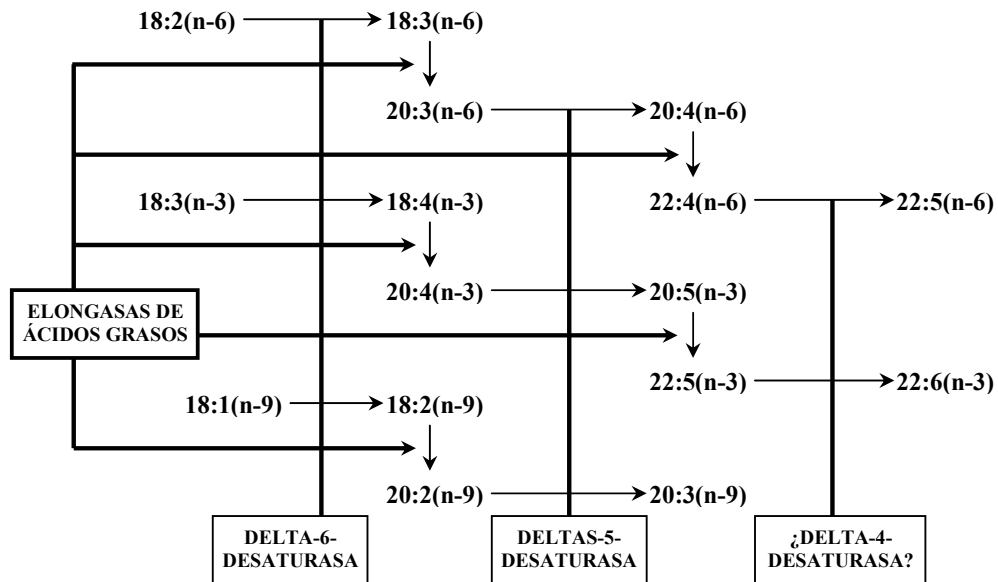
El análisis particular de la composición lipídica a lo largo del desarrollo embrionario ha sido objeto de diversos estudios en distintas especies de peces y permite el entendimiento de las funciones particulares de las diferentes clases de lípidos y ácidos grasos en los procesos implicados. Los estudios en los que se han analizado los ácidos

grasos durante la ontogenia en distintas especies, resaltan la importancia de los PUFA y en particular, de los HUFA (Tabla II). Los resultados que se obtienen con este enfoque presentan alta relevancia en el cultivo particular de una especie principalmente al nivel de requerimientos nutricionales. Sin embargo, dichos estudios muestran diferencias en relación al origen del organismo (marinos o dulceacuicolas), así como en relación a su alimentación (herbívoros o carnívoros).

### **2.3. Ácidos grasos esenciales: dulceacuicolas vs marinos**

Un aspecto importante respecto a los requerimientos de ácidos grasos es la diferencia entre los peces dulceacuícolas y marinos: la cantidad de vitelo en organismos dulceacuícolas es mayor y esta gran cantidad de reservas energéticas y estructurales determina la larga duración del desarrollo embrionario (Blaxter, 1969) lo que les permite alcanzar mayores tallas al momento de la eclosión y mas tiempo para encontrar alimento (Blaxter y Hempel, 1963). Además, las especies dulceacuícolas tienen la capacidad de elongar y desaturar el 18:2n-6 a ARA, y el 18:3n-3 a EPA y DHA (Figura 2). Como consecuencia, en estos organismos los ácidos grasos considerados como esenciales tanto de la serie n-3 como n-6 son de 18 carbonos.

En contraste, los organismos marinos tienen una capacidad enzimática limitada de elongación y desaturación, posiblemente a nivel de la delta-5-desaturasa y de la síntesis de DHA a partir de otros PUFA, siendo por lo tanto esenciales los ácidos grasos de 20 y 22 carbonos, ARA, EPA y DHA (Sargent, 1995; Kanazawa, 1997). Sin embargo, dicha separación entre dulceacuicolas y marino ha sido cuestionada, dado que algunos organismos dulceacuicolas no presentan la maquinaria enzimática necesaria para la síntesis de HUFA (Tocher *et al.*, 2002).



**Figura 2.- Elongación y desaturación de ácidos grasos insaturados (Tomado de Sargent *et al.*, 1995).**

Otro motivo de las diferencias entre distintos peces puede deberse a los hábitos alimenticios de las distintas especies, dado que los peces con hábitos carnívoros tienen mayor suministro de ácidos grasos de 20 y 22 carbonos, mientras que los de hábitos o herbívoros tienen mayor suministro de ácidos grasos de 18 carbonos (Sargent, 1995). Además, los organismos marinos que son usados como fuente de alimentación de los peces, acumulan mayores niveles de HUFA que los organismos dulceacuicolas, dada la salinidad del agua marina, y en ocasiones a las bajas temperaturas en las que habitan algunas especies (Whitney, 1974; Morris *et al.*, 1982; Leray *et al.*, 1984; Dawes *et al.*, 1993; Navarro *et al.*, 1993b, Lee *et al.*, 1989; Tocher *et al.*, 1995, Farkas *et al.*, 2000). Como consecuencia, los peces que se alimentan de algas, o zooplancton de origen marino, tienen un mayor suministro natural de HUFA, por lo cual no requieren sintetizar estos ácidos grasos.

Las especies marinas producen grandes cantidades de huevos pequeños los cuales a su vez generan larvas muy pequeñas. Dichas larvas tienen un rápido desarrollo y como consecuencia, requieren la utilización de alimento vivo que cubra con sus requerimientos nutricionales. Además, las larvas de especies marinas son más susceptibles al estrés ambiental y tienen altas tasas de mortalidad (Sargent *et al.*, 1997), por lo que es posible que requieran mayores niveles de ARA, un precursor de prostaglandinas, cuyos niveles incrementan durante el estrés (Bell *et al.*, 1996b; Bell y Sargent, 1993). Es necesario entender el proceso de transferencia de los componentes energéticos y estructurales (particularmente lípidos) hacia la gónada ya que la cantidad y calidad de dichos componentes que finalmente sean transferidos hacia los huevos determinarán en gran medida el tamaño de la larva al momento de la primera alimentación y la cantidad de tiempo disponible para encontrar alimento afectando directamente las tasas de crecimiento y supervivencia.

En este sentido, el pez blanco presenta varias similitudes con sus ancestros marinos, tales como; 1) una corta duración del desarrollo embrionario y; 2) una corta etapa de lecitotrofia durante la cual la larva aún depende del vitelo (Morelos-López *et al.*, 1994; Campos-Mendoza, 2000). Además, el pez blanco es una especie carnívora que basa su alimentación en crustáceos planctónicos, decápodos y con frecuencia insectos (Solórzano, 1963). Como consecuencia, es probable que sus necesidades de ácidos grasos se asemejen a las de una especie marina y deban ser considerados los HUFA de 20 y 22 carbonos como esenciales dentro de sus requerimientos de lípidos. Sin embargo, al comportarse como especie dulceacuícola los ácidos grasos esenciales serían los de 18 carbonos. En esta investigación se analizará la importancia de los lípidos en la reproducción, el desarrollo embrionario y larvario del pez blanco con la

finalidad de establecer los requerimientos nutricionales de estos componentes y poder formular dietas adecuadas para la optimización de su cultivo.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

El pez blanco del Lago de Pátzcuaro es una especie endémica de este lago situado en el estado de Michoacán, y representa una importante fuente de ingresos para la región ya que muchas familias dependen casi exclusivamente de su pesquería. Esta dependencia económica representa una de las razones por las que la población de pez blanco ha ido disminuyendo, dada su alta demanda en el mercado local y regional considerando el valor comercial del producto (200 pesos por kilo o más en ciertas temporadas), que lo hace producto de la explotación intensiva y poco selectiva en cuanto a las tallas de captura, disminuyendo así su potencial reproductivo. Como consecuencia los volúmenes de captura por pesca comercial de esta especie han disminuido considerablemente (Chacón-Torres y Rosas-Monge, 1995). De continuar esta situación se puede llevar al pez blanco al peligro de extinción, por lo cual su pesca está siendo estrictamente regulada (DOF, 1998). Debido a lo anterior, el desarrollo del cultivo del pez blanco surge como una alternativa para su explotación, representando una fuente de empleos en la región e inclusive una estrategia para su repoblamiento.

Sin embargo, para lograr la acuacultura del pez blanco, es necesario establecer cuales son sus necesidades alimenticias, en particular durante la reproducción y desarrollo larvario, las dos etapas mas difíciles del cultivo. En particular y dada la importancia de los lípidos en estas etapas del ciclo de vida, es necesario conocer los requerimientos de ácidos grasos esenciales o mejor dicho que ácidos grasos se consideran como esenciales en el pez blanco. Un enfoque comúnmente empleado es el análisis de la composición de ácidos grasos de los organismos. Este enfoque es utilizado en el presente trabajo dentro de dos.



contextos diferentes: 1) análisis de la composición de ácidos grasos en diferentes tejidos de hembras y machos silvestres durante la época reproductiva, lo cual permite visualizar si hay movilización diferencial entre hembras y machos desde tejidos de reserva (tejido adiposo e hígado, principalmente) hacia la gónada, y 2) análisis de la variación de ácidos grasos a lo largo de la ontogenia a partir de desoves de organismos silvestres y cultivados, lo cual permitirá detectar si existen ciertas deficiencias en caso de los organismos cultivados, así como observar procesos de utilización, síntesis o conservación de los diferentes ácidos grasos.

#### **4. HIPÓTESIS**

1. Dado el origen marino del pez blanco, este tiene necesidades de HUFA y es probable que no tenga la maquinaria enzimática para desaturar y elongar a partir de 18:3-n3 y 18:2n-6.
2. La dieta de los peces silvestres consiste en plancton, el cual generalmente tiene deficiencias de DHA y altos niveles de ARA, por lo que se espera que el DHA disponible a los reproductores sea incorporado en gónada y transferidos a huevos y como consecuencia, sus niveles en hembras, disminuyan en otros tejidos en comparación con los machos.
3. Dados los niveles menores de DHA y otros HUFA disponibles para los reproductores en función de su origen, se espera que los huevos de organismos silvestres presenten altos niveles de ARA y bajos de DHA, mientras que los cultivados presenten mayores niveles de EPA y menores de DHA, debido a que en estos últimos, la dieta consiste en peletizado y *Artemia* sp., la cual tiene altos niveles de EPA y deficiencias de DHA.
4. Por otro lado, dada la mayor disponibilidad de alimento en general ofrecido a los reproductores cultivados, se espera que los huevos de dichos reproductores tengan mayores proporciones de triglicéridos en comparación con los silvestres, lo cual también implica una dinámica lipídica diferente durante el desarrollo.

## **5. OBJETIVOS**

### **General**

- Analizar la composición de lípidos en adultos, huevos, embriones y larvas de pez blanco, con el fin de establecer las bases de los requerimientos nutricionales de lípidos durante el desarrollo larvario del pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor*).

### **Particulares**

- Determinar la concentración y composición de ácidos grasos en diferentes tejidos de reproductores de pez blanco.
- Determinar la concentración y composición de ácidos grasos y lípidos durante los diferentes estadios del desarrollo embrionario y larvario del pez blanco.

## **6. MATERIAL Y METODOS**

### **6.1. Ensayos preliminares**

En un ensayo preliminar, se definió la metodología para el muestreo de huevos, embriones y larvas de pez blanco. Se determinó que la cantidad de muestra mínima necesaria para realizar las determinaciones de ácidos grasos era de 30 a 50 mg de peso de huevo o larvas para cada uno de los siete estadios a considerar. Se obtuvo el peso promedio de huevos, embriones y larvas de cada estadio, con el fin de saber cuantos individuos tenían que obtenerse en cada muestreo.

### **6.2. Primer estudio: Tejidos de reproductores silvestres**

Los organismos adultos (5 hembras y 5 machos) fueron capturados en el mes de marzo por medio de un chinchorro en el Lago de Pátzcuaro a partir de organismos de la pesca comercial (Barriga-Tovar, 2000) y trasladados en hielo hasta las instalaciones del INIRENA. Ahí, se procedió a la disección para la obtención de muestras de hígado, músculo, cerebro, gónada y tejido adiposo, las cuales fueron congeladas a  $-70^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis de ácidos grasos. También se tomaron muestras de plancton en el Lago para su análisis de ácidos grasos cuyas proporciones (%) se muestran en la tabla IV.

### 6.3. Segundo estudio: Ontogenia de silvestres y cultivados

#### 6.3.1. Desoves de organismos cultivados

La obtención de desoves se realizó a partir de organismos de 1.5 años de edad crecidos en estanques de tierra del Instituto de investigación sobre recursos naturales (INIRENA) y que a su vez fueron obtenidos en el laboratorio a partir de desoves de organismos silvestres por lo cual se pueden considerar como la primera generación de pez blanco en cautiverio. Estos organismos (reproductores cultivados) fueron colocados en tres tinas de 1.5 m de diámetro y una profundidad del agua de 30-40 cm, agua dulce (salinidad entre 0 y 3 psu), aireación constante, una relación de macho y hembra de 1:1 y un recambio de agua del 10% por día. Los reproductores fueron alimentados con pelletizado para trucha y *Artemia sp* adulta, cuya composición de ácidos grasos también fue analizada. Los huevecillos del pez blanco, al ser desovados se adhieren a un sustrato (White *et al.*, 1993) por lo cual se colocaron mechudas de plástico con este propósito. Los desoves se recolectaron diariamente a partir de estas mechudas e inclusive a partir de las mangueras de aireación que también servían como sustrato, se registró la tina de procedencia y la fecha, para así poder dar el seguimiento al desarrollo embrionario-larvario. Los desoves colectados fueron transferidos a tinas de 10 L, con aireación constante, salinidad de 10 psu para evitar una posible infección por hongos y a una temperatura de 25°C, presentándose la eclosión a los 7 días; un día antes de la eclosión se disminuyó la salinidad a 5 psu permitiendo una eclosión masiva, como se describe en Martínez-Palacios *et al.* (1998). Los desoves de un solo día eran colocados en una misma tina de 10 L, anotando la fecha del desove para así establecer las fechas de los muestreos de los siguientes estadios en cada una de las tinas. Es importante señalar que

con este procedimiento solo fue posible obtener un desove colectivo de varias hembras que desovaron ese día en determinada tina, aunque es posible que en algunos casos solo haya sido una hembra.

### **6.3.2. Desoves de organismos silvestres**

El muestreo de los desoves para los organismos silvestres se realizó durante el pico reproductivo de los organismos en el Lago de Pátzcuaro (febrero). Los peces adultos del lago de Pátzcuaro fueron capturados por medio de la pesca comercial con chinchorro (Barriga-Tovar, 2000). Se utilizó el procedimiento de rutina empleado en el INIRENA para la fertilización artificial (Barriga-Tovar, 2000) que se describe brevemente a continuación: los ovocitos de una hembra fueron expulsados manualmente por presión abdominal y se colocaron en un recipiente con capacidad de 2 L con solución de urea a 3g/L y NaCl a 4g/L (Horváth *et al.*, 1984). Posteriormente, se obtuvo el esperma por presión abdominal de por lo menos 2 machos y fue colocado en el mismo recipiente en donde desde un principio se habían colocado mechudas de hilos plásticos como sustrato. Después de permitir la fertilización con agitación suave y aprovechando la propiedad de adherencia natural de los huevos (White *et al.*, 1993), se transfieren los huevos adheridos en las mechudas a bolsas de plástico con oxígeno para su transporte a las instalaciones del INIRENA. Una vez fertilizados los huevos, estos fueron incubados en las mismas condiciones que los desoves de organismos cultivados (Anexo C).

### 6.3.2. a. Muestreo de huevos y embriones

Debido a que en el caso del cultivo los desoves eran colectivos, es probable que no hayan sido sincrónicos, es decir, existía una diferencia de horas entre los desoves de un mismo día, por esta razón al momento de tomar la muestra que correspondía a ese día, fue necesario verificar bajo el microscopio que los organismos presentaran las características del estadio que se pretendía muestrear. Los huevos o embriones fueron tomados directamente de la mechuda de plástico en la que se encontraban adheridos y fueron colocados bajo el microscopio (10x) en donde eran seleccionados cortando los hilos adherentes con la ayuda de pinzas y bisturí. Los huevos o embriones así obtenidos se colocaron en un tamiz de luz de malla de 5  $\mu\text{m}$  y por el lado opuesto al tamiz se pasó un trozo de papel absorbente hasta retirar el exceso de humedad en los huevos. Para obtener el peso de muestra deseado (30 a 50 mg) se taró el tubo eppendorf y los huevos eran contados y colocados dentro del tubo hasta obtener el peso deseado e inmediatamente eran etiquetados y almacenados a  $-70^{\circ}\text{C}$ . En el caso de las muestras de organismos silvestres el primer estadio (huevo recién fertilizado) se obtenía directamente en el lago en donde inmediatamente después de la fertilización artificial una muestra del desove era colocada aproximadamente a  $-20^{\circ}\text{C}$  y una vez llegado a las instalaciones de INIRENA se proseguía con el mismo procedimiento utilizado para los desoves provenientes de organismos cultivados (Ver Anexo C). Para los siguientes muestreos en ambos casos se siguió el mismo procedimiento que en los organismos del cultivo descrito anteriormente. Cabe mencionar que por cada estadio se tomaron 5 réplicas, cada una de las cuales correspondía a un desove colectivo en caso de organismos cultivados o a un desove individual en organismos silvestres. Por último, las muestras de huevos y embriones obtenidas se colocaron en viales ámbar con 2 mL de

solución Folch (cloroformo: metanol, 2:1) y con burbujeo de nitrógeno al final para poder ser transportadas al laboratorio de Metabolismo de Lípidos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, para los respectivos análisis de lípidos por iatroscan y ácidos grasos por cromatografía de gases/espectrometría de masas.

### 6.3.3. Cultivo larvario y de alimento vivo

Las condiciones de cultivo larvario fueron las usadas rutinariamente en el INIRENA (Martínez-Palacios *et al.*, 1998). Las larvas de 2 a 15 días fueron alimentadas con rotíferos (*Brachionus plicatilis*) dos veces al día en raciones de 1000 rotíferos por larva. Los cultivos de rotíferos se mantuvieron en agua dulce con microalgas del genero *Chlorella sp.* de acuerdo a los procedimientos que ya se tienen estandarizados en el INIRENA (Campos-Mendoza, 2000). La composición de ácidos grasos (%) de rotíferos se muestra en la tabla IV.

A partir de los 15 días de edad, las larvas fueron alimentadas con nauplios de *Artemia salina* (200 nauplios por larva, 2 veces al día). Los quistes comerciales (Biomarine grado A) fueron desinfectados con hipoclorito de sodio e incubados por 24 horas a una densidad de 1 g/L, en agua a 30 ppm de salinidad y 28°C. Los nauplios eclosionados resultantes fueron separados de los quistes vacíos por un lavado con agua filtrada y posteriormente transferidos a una densidad de 200 nauplios por ml, los nauplios fueron cosechados al cabo de 24 horas totales y utilizados directamente para la alimentación de las larvas (Leger *et al.*, 1986; ANEXO B).



### 6.3.3. a. Obtención de larvas

Para la obtención de muestras, las larvas fueron tomadas directamente del agua con la ayuda de una pipeta pasteur con bulbo y colocadas en una charola con agua en donde eran transportadas hasta el microscopio, de la misma manera que con los huevos y embriones se seleccionaban de acuerdo a sus características y las que correspondían al muestreo de ese día, se colocaban en un tamiz en donde se les removía el exceso de alimento (rotíferos) con agua destilada, después se eliminaba el exceso de agua con papel absorbente y con pinzas de disección eran contadas y colocadas dentro del tubo eppendorf hasta obtener el peso deseado y por último almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Las muestras de larvas obtenidas se colocaron en viales ámbar con 2 mL de solución Folch (cloroformo: metanol, 2:1) y se transportaron al CIBNOR como se describió antes. Los muestreos para desoves de organismos silvestres y cultivados se realizaron de acuerdo a la tabla III.

**Tabla III.- Número de muestreos y características de los estadios a obtener durante el desarrollo embrionario y larvario del pez blanco.**

| Muestreo | Días postdesove | Edad de larva (días) | Estadio y características                         |
|----------|-----------------|----------------------|---|
| 1        | 0               | /                    | Huevo recién fertilizado                          |
| 2        | 4               | /                    | Desarrollo embrionario intermedio (oculación)     |
| 3        | 7               | /                    | Desarrollo embrionario completo (pre-eclosión)    |
| 4        | 8               | 1                    | Larva recién eclosionada                          |
| 5        | 10              | 3                    | Larva al final del período de lecitotrofia        |
| 6        | 22              | 15                   | Transición de dieta de rotíferos a <i>Artemia</i> |
| 7        | 37              | 30                   | Transición de dieta de <i>Artemia</i> a hojuelas  |

#### **6.3.4. Determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases/espectrometría de masas.**

Las muestras fijadas en solución de Folch fueron homogenizadas con una varilla de vidrio en un volumen de 2 ml de solución de Folch, posteriormente se llevó hasta 6 ml de solución folch en viales de vidrio y allí mismo se les añadieron 10  $\mu$ L de BHT (5 mg/10 ml  $\text{CHCl}_3$ ) como antioxidante y 10  $\mu$ L de 23:0 (20 mg/10 ml  $\text{CHCl}_3$ ) como estándar interno, se mantuvieron por 24 horas a  $-20^\circ\text{C}$  y se procedió a la separación de las fracciones neutra y polar por elución diferencial en micro columnas empaquetadas con sílice hidratado al 6% (Figura 3). La fracción de lípidos neutros se eluyó con 10 ml de cloroformo: metanol (98:2) mientras que la fracción de lípidos polares se eluyó con 15 ml de metanol, siguiendo la metodología descrita en Palacios *et al.* (2001). La mitad de cada fracción fue guardada para la determinación de clases de lípidos, y en la otra mitad se realizó el análisis de ácidos grasos. Esta última fracción se evaporó a sequedad por medio de centrifugación al vacío y burbujeo de nitrógeno. Posteriormente una parte de cada fracción se transesterificó con ácido clorhídrico al 5% en metanol a una temperatura de  $85^\circ\text{C}$  (Sato y Murata, 1988), se dejaron enfriar y se les añadió hexano realizando de 3 a 4 lavados con agua destilada para eliminar impurezas, separando finalmente el hexano del agua por congelación a  $-20^\circ\text{C}$ . Se transfirieron 500 $\mu$ L del hexano con la fracción lipídica a viales ámbar para ser inyectado en el cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas. Los metil-esteres de los ácidos grasos se analizaron por medio de un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas modelo HPG1800B. Se utilizó una columna capilar de sílice fundida de 30m longitud x 0.25  $\mu\text{m}$  (espesor de película) x 0.25mm (diámetro interno), fase de poli-etilen-glicol con helio como gas acarreador a un flujo de 0.9 ml/min, una rampa de temperatura de  $110\text{-}220^\circ\text{C}$ , y detección por espectrometro de masas (ANEXO D). En la identificación y cuantificaron

de las diferentes clases de ácidos grasos se utilizó el estándar interno (23:0) originalmente agregado a las muestras lo cual permitió corregir las pérdidas relativas durante el proceso de extracción. El uso de estándares comerciales permitió identificar los ácidos grasos de cada muestra.

### **6.3.5. Determinación de clases de lípidos por Iatroscan**

Los distintos lípidos del resto de la fracción neutra (tri-, di-, y monoacilglicéridos, colesterol y ésteres de colesterol) y de la fracción polar (diferentes clases de fosfolípidos) fueron separados y cuantificados por cromatografía en capa fina con detección por ionización de flama por medio de un Iatroscan TLC/FID MK-5, siguiendo la metodología descrita en Palacios *et al.* (2001). Se procedió a evaporar las muestras hasta aproximadamente 0.4 ml, se colocaron en viales ámbar y se evaporaron a sequedad utilizando burbujeo constante de nitrógeno, una vez evaporadas, las muestras fueron resuspendidas en 20 µL de solución Folch (cloroformo: metanol, 2:1). Las muestras se analizaron por duplicado en chromarods S-III previamente hidratados en una cámara con humedad al 7%, utilizando una fase móvil compuesta de hexano: acetato de etilo: dietil eter: ácido fórmico (91:6:3:1) durante 30 min (Ackman y Heras, 1997; Palacios *et al.*, 2001). Los chromarods fueron escaneados a 30 cm/min con un flujo de hidrógeno de 160 ml/min y de aire de 2000 ml/min.

### 6.3.6. Muestreo y composición de ácidos grasos del alimento

#### Plancton, *Artemia*, Rotíferos y Alimento peletizado.

Las muestras de plancton se obtuvieron directamente del Lago de Pátzcuaro, de donde se filtró el agua para obtener 6 muestras de 50 a 75 mg. La composición de ácidos grasos (%) de plancton se muestra en la tabla IV.

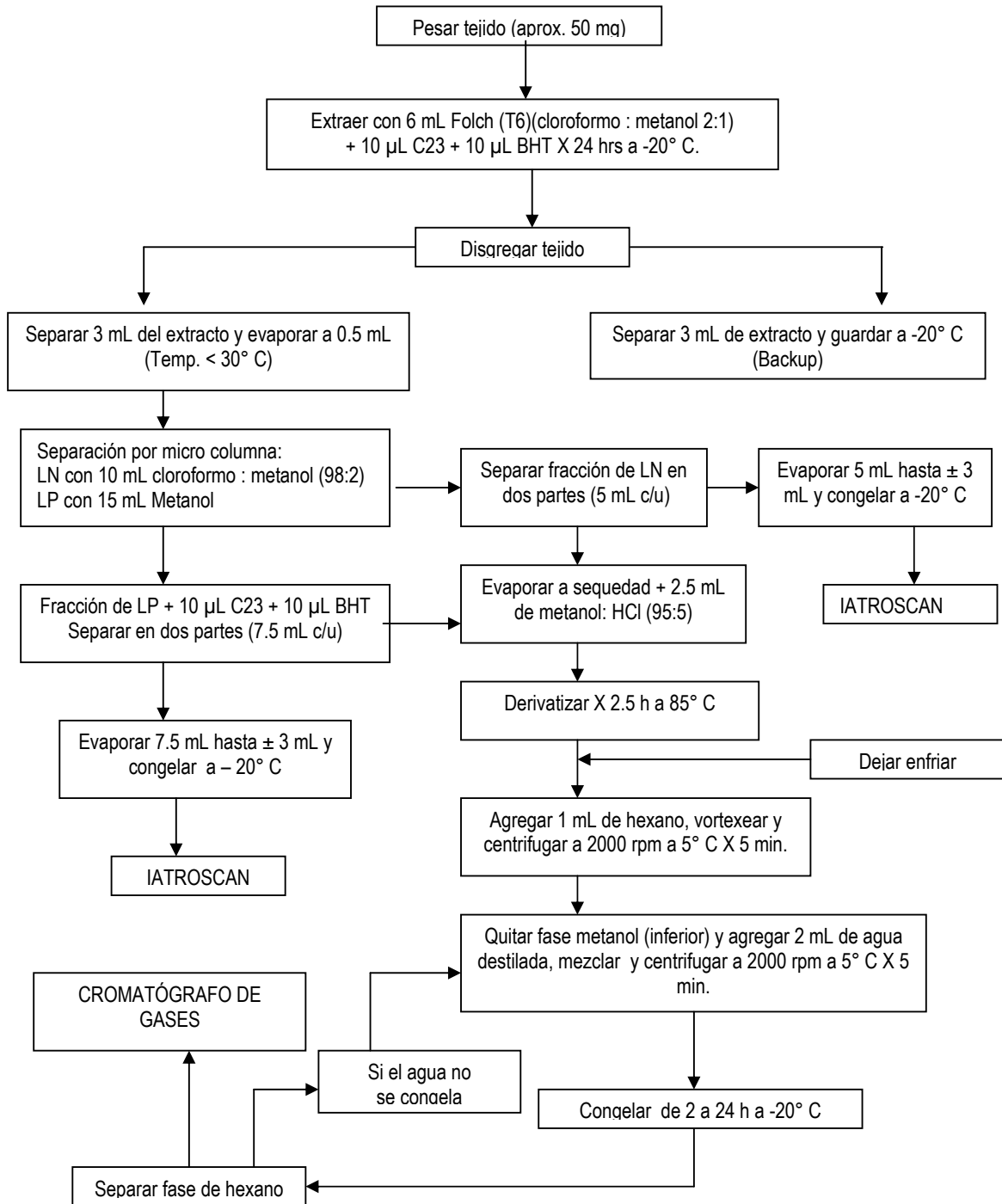
Los nauplios, así como los organismos adultos de *Artemia* sp. Se obtuvieron directamente del cultivo realizado rutinariamente en el INIRENA para la alimentación tanto de larvas (nauplios) como de reproductores (adultos). Se tomaron 5 muestras de aproximadamente 50 mg para cada caso. Tanto los organismos adultos como los nauplios fueron muestreados mediante el mismo procedimiento descrito anteriormente para la obtención de las larvas. La composición de ácidos grasos (%) de nauplios y adultos de artemia se muestra en la tabla IV. Para obtener las muestras de rotíferos se filtró directamente el agua del cultivo utilizando un tamiz de 50 $\mu$ .

En el caso del alimento peletizado con el que se alimenta rutinariamente a los reproductores en cautiverio se analizaron 3 muestras. La composición de ácidos grasos (%) del alimento peletizado se muestra en la tabla IV.

Tabla IV.- Proporción (%) de ácidos grasos totales en alimentos.

| ÁCIDO GRASO | PLANCTON | ARTEMIA (adulto) | ARTEMIA (nauplio) | ROTIFEROS | PELETIZADO |
|-------------|----------|------------------|-------------------|-----------|------------|
| 14:0        | 0.64     | 2.86             | 1.03              | 1.2       | 5.99       |
| 16:0        | 21.09    | 13.46            | 13.09             | 22.1      | 20.81      |
| 18:0        | 8.47     | 7.96             | 4.72              | 2.5       | 5.63       |
| 20:0        | 0.22     | 0.42             | 0.26              | 0.3       | 0.40       |
| 16:1n-9     | 1.15     | 0.90             | 1.21              | 1.8       | 6.94       |
| 16:1n-7     | 5.75     | 14.37            | 6.03              | 4.1       | 0.14       |
| 18:1n-9     | 5.08     | 19.84            | 30.06             | 5.3       | 10.82      |
| 18:1n-7     | 4.24     | 12.88            | 7.93              | 13.2      | 2.32       |
| 20:1n-9     | 0.19     | 0.70             | 0.77              | N.D       | 1.20       |
| 20:1n-7     | 0.14     | 0.62             | 0.28              | N.D       | 0.21       |
| 22:1n-9     | 0.20     | 0.94             | 0.46              | N.D       | 0.17       |
| 18:2n-6     | 3.92     | 3.96             | 4.81              | 24.5      | 8.36       |
| 18:3n-6     | 1.27     | 0.72             | 1.14              | 0.2       | 0.19       |
| 18:3n-3     | 7.53     | 4.44             | 18.28             | 20.8      | 1.15       |
| 18:4n-3     | 1.75     | 1.35             | 3.41              | 0.4       | 1.38       |
| 20:2n-6     | 0.22     | 0.62             | 0.29              | 0.1       | 0.19       |
| 20:3n-6     | 0.24     | 0.66             | 0.31              | N.D       | 0.22       |
| 20:4n-6     | 4.26     | 4.23             | 1.41              | 0.5       | 2.30       |
| 20:5n-3     | 13.01    | 7.72             | 3.61              | 0.8       | 13.86      |
| 21:4n-6     | 0.32     | 1.35             | 0.90              | N.D       | 0.84       |
| 22:4n-6     | 0.34     | N.D              | N.D               | N.D       | 0.29       |
| 22:5n-6     | 3.59     | N.D              | N.D               | 0.9       | 0.58       |
| 22:5n-3     | 0.74     | N.D              | N.D               | 0.5       | 2.56       |
| 22:6n-3     | 11.92    | N.D              | N.D               | 0.5       | 12.72      |
| Σ SAT       | 30.54    | 24.70            | 19.10             | 37.6      | 32.84      |
| Σ MUFA      | 16.83    | 50.24            | 46.74             | 24.4      | 22.46      |
| Σ PUFA      | 52.27    | 25.06            | 34.16             | 49.3      | 44.67      |
| Σ HUFA      | 38.68    | 31.99            | 50.27             | 3.7       | 34.55      |
| (n-3)/(n-6) | 2.65     | 1.13             | 2.69              | 0.9       | 2.44       |
| 22:6/20:5   | 0.92     | N.D              | N.D               | 0.7       | 0.92       |
| Sat index   | 249.65   | 143.60           | 159.77            | 154.5     | 224.95     |

Σ SAT = suma de ácidos grasos saturados; Σ MUFA = suma de ácidos grasos monoinsaturados; Σ PUFA = suma de ácidos grasos polinsaturados; Σ HUFA = suma de ácidos grasos altamente polinsaturados; Sat index = Índice de insaturación (número de dobles enlaces por cada 100); N.D= No detectado.



**Figura 3.- Diagrama de flujo de la extracción de lípidos y ácidos grasos.**

## 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para comparar la composición de ácidos grasos entre los distintos tejidos en adultos de ambos sexos, se utilizó un ANOVA unifactorial considerando como variable independiente el sexo con dos niveles (hembras y machos). Para comparar la composición de ácidos grasos y clases de lípidos en los distintos estadios larvarios de desoves silvestres y cultivados se utilizó un ANOVA bifactorial considerando como primera variable independiente el estadio embrionario - larvario con cuatro niveles (huevo recién fertilizado, desarrollo embrionario intermedio, desarrollo embrionario completo y larva recién eclosionada) y como segunda variable independiente el origen del desove con dos niveles (silvestres y cultivados). Sólo en caso de obtener valores significativos de interacción de variables independientes, se procedió a la comparación de medias individuales por medio de pruebas *a posteriori* de Tukey. Los ácidos grasos de cada fracción se analizaron por separado. En algunos desoves de organismos cultivados alcanzó muestra para tres estadios larvarios posteriores. Estos datos se encuentran reportados en otras tablas, donde se aplicó un ANOVA unifactorial, considerando estadio como variable independiente. Todos los resultados están presentados como media  $\pm$  error estándar considerando como diferencia significativa resultados  $P < 0.05$ . Sin embargo, cuando la probabilidad tenía un valor entre 0.05 y 0.1, ésta se consideró como una tendencia a la significancia estadística y se menciona como tal en los resultados. Para determinar si existe síntesis o no de ácidos grasos esenciales (ARA, DHA y EPA) en el desarrollo de desoves tanto silvestres como cultivados se realizaron correlaciones de cada ácido graso y su respectivo precursor.

## **8. RESULTADOS**

### **8.1. Primer estudio: Tejidos de reproductores**

#### **8.1. a. Cerebro**

Las concentraciones (mg/g) de ácidos grasos en cerebro de organismos reproductores de pez blanco en la fracción neutra y polar se muestran en la tabla V. En la fracción neutra del cerebro, no se presentaron diferencias significativas entre ninguno de los ácidos grasos de hembras y machos presentes en este tejido. En la fracción polar, el 18:1DMA presentó una tendencia a ser mayor en el cerebro de machos aunque no se obtuvo una diferencia significativa; el resto de los ácidos en esta fracción no presentaron diferencias significativas entre ambos sexos. En relación a las proporciones (Tabla VI) de ácidos grasos en la fracción neutra de cerebro, el total de ácidos grasos saturados tendió a ser mayor en las hembras, aunque sin presentarse una diferencia significativa, mientras que en los machos la sumatoria de ácidos grasos polinsaturados y altamente insaturados, así como el índice de saturación fueron significativamente más altos ( $P < 0.05$ ; Tabla VI). En cuanto a la fracción polar se presentaron diferencias significativas en el ácido 18:1DMA y el total de DMA, siendo mayores en machos ( $P < 0.05$ ; Tabla VI). Por otra parte el 18:0DMA y el 20:3n-6 tendieron a ser mayores en machos aunque sin presentar diferencias significativas. La suma de ácidos grasos polinsaturados y altamente insaturados, así como el índice de saturación tendieron a ser mayores en hembras, aunque sin diferencias significativas. El resto de los ácidos grasos no presentaron diferencias significativas entre ambos sexos.



**Tabla V.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el cerebro de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Se realizó un ANOVA unifactorial, considerando sexo (machos vs. hembras) como variable independiente, y los resultados del ANOVA están incluidos en la columna a la derecha para cada fracción. Los ácidos grasos de la fracción neutra y polar se analizaron por separado. Los valores están expresados como media  $\pm$  error estándar.

| ÁCIDO GRASO   | FRACCIÓN NEUTRA |                 | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR   |                  | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|---------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|------------------|----------------------|
|               | HEMBRAS         | MACHOS          |                      | HEMBRAS          | MACHOS           |                      |
| 14:0          | 0.06 $\pm$ 0.02 | 0.04 $\pm$ 0.01 | N.S                  | 0.09 $\pm$ 0.02  | 0.10 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 16:0          | 0.85 $\pm$ 0.12 | 0.73 $\pm$ 0.12 | N.S                  | 2.96 $\pm$ 0.15  | 3.21 $\pm$ 0.15  | N.S                  |
| 18:0          | 0.73 $\pm$ 0.11 | 0.67 $\pm$ 0.13 | N.S                  | 1.62 $\pm$ 0.12  | 1.75 $\pm$ 0.12  | N.S                  |
| 20:0          | 0.04 $\pm$ 0.01 | 0.04 $\pm$ 0.02 | N.S                  | 0.12 $\pm$ 0.02  | 0.12 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 18:0DMA       | 0.60 $\pm$ 0.12 | 0.56 $\pm$ 0.12 | N.S                  | 0.45 $\pm$ 0.09  | 0.56 $\pm$ 0.12  | N.S                  |
| 18:1DMA       | 0.23 $\pm$ 0.10 | 0.19 $\pm$ 0.09 | N.S                  | 0.19 $\pm$ 0.04  | 0.25 $\pm$ 0.09  | 0.077                |
| 16:1n-9       | 0.11 $\pm$ 0.05 | 0.10 $\pm$ 0.02 | N.S                  | 0.20 $\pm$ 0.02  | 0.22 $\pm$ 0.09  | N.S                  |
| 16:1n-7       | 0.23 $\pm$ 0.09 | 0.17 $\pm$ 0.09 | N.S                  | 0.53 $\pm$ 0.12  | 0.58 $\pm$ 0.09  | N.S                  |
| 18:1n-9       | 1.10 $\pm$ 0.12 | 0.95 $\pm$ 0.13 | N.S                  | 3.95 $\pm$ 0.15  | 4.34 $\pm$ 0.23  | N.S                  |
| 18:1n-7       | 0.19 $\pm$ 0.11 | 0.15 $\pm$ 0.09 | N.S                  | 0.34 $\pm$ 0.10  | 0.34 $\pm$ 0.11  | N.S                  |
| 20:1n-9       | 0.05 $\pm$ 0.02 | 0.05 $\pm$ 0.02 | N.S                  | 0.10 $\pm$ 0.02  | 0.11 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 20:1n-7       | 0.02 $\pm$ 0.01 | 0.03 $\pm$ 0.01 | N.S                  | 0.05 $\pm$ 0.01  | 0.05 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 22:1n-9       | 0.06 $\pm$ 0.03 | 0.07 $\pm$ 0.02 | N.S                  | 0.08 $\pm$ 0.02  | 0.08 $\pm$ 0.01  | N.S                  |
| 18:2n-6       | 0.06 $\pm$ 0.02 | 0.06 $\pm$ 0.01 | N.S                  | 0.06 $\pm$ 0.01  | 0.09 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 18:3n-6       | 0.04 $\pm$ 0.02 | 0.04 $\pm$ 0.01 | N.S                  | 0.04 $\pm$ 0.02  | 0.04 $\pm$ 0.01  | N.S                  |
| 18:3n-3       | 0.07 $\pm$ 0.03 | 0.05 $\pm$ 0.02 | N.S                  | 0.04 $\pm$ 0.02  | 0.06 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 18:4n-3       | 0.05 $\pm$ 0.02 | 0.06 $\pm$ 0.03 | N.S                  | 0.07 $\pm$ 0.02  | 0.07 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 20:2n-6       | 0.03 $\pm$ 0.01 | 0.03 $\pm$ 0.01 | N.S                  | 0.04 $\pm$ 0.01  | 0.03 $\pm$ 0.01  | N.S                  |
| 20:3n-6       | 0.03 $\pm$ 0.01 | 0.03 $\pm$ 0.01 | N.S                  | 0.03 $\pm$ 0.01  | 0.05 $\pm$ 0.01  | N.S                  |
| 20:4n-6       | 0.63 $\pm$ 0.10 | 0.58 $\pm$ 0.12 | N.S                  | 1.00 $\pm$ 0.01  | 1.04 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 20:5n-3       | 0.12 $\pm$ 0.05 | 0.20 $\pm$ 0.12 | N.S                  | 0.16 $\pm$ 0.02  | 0.14 $\pm$ 0.06  | N.S                  |
| 21:4n-6       | 0.10 $\pm$ 0.02 | 0.11 $\pm$ 0.06 | N.S                  | 0.30 $\pm$ 0.12  | 0.27 $\pm$ 0.04  | N.S                  |
| 22:4n-6       | 0.14 $\pm$ 0.09 | 0.13 $\pm$ 0.05 | N.S                  | 0.18 $\pm$ 0.09  | 0.18 $\pm$ 0.06  | N.S                  |
| 22:5n-6       | 0.07 $\pm$ 0.01 | 0.06 $\pm$ 0.01 | N.S                  | 0.12 $\pm$ 0.05  | 0.10 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 22:5n-3       | 0.08 $\pm$ 0.02 | 0.07 $\pm$ 0.01 | N.S                  | 0.11 $\pm$ 0.06  | 0.09 $\pm$ 0.02  | N.S                  |
| 22:6n-3cis    | 0.41 $\pm$ 0.13 | 0.42 $\pm$ 0.09 | N.S                  | 1.95 $\pm$ 0.12  | 1.95 $\pm$ 0.06  | N.S                  |
| 22:6n-3trans  | 2.18 $\pm$ 0.12 | 2.05 $\pm$ 0.16 | N.S                  | 4.50 $\pm$ 0.15  | 4.72 $\pm$ 0.15  | N.S                  |
| 24:5n-3       | 0.84 $\pm$ 0.12 | 0.85 $\pm$ 0.17 | N.S                  | 1.24 $\pm$ 0.15  | 1.24 $\pm$ 0.18  | N.S                  |
| 24:6n-3       | 0.11 $\pm$ 0.05 | 0.12 $\pm$ 0.05 | N.S                  | 0.57 $\pm$ 0.13  | 0.51 $\pm$ 0.12  | N.S                  |
| $\Sigma$ SAT  | 2.29 $\pm$ 0.13 | 2.03 $\pm$ 0.12 | N.S                  | 5.25 $\pm$ 0.36  | 5.74 $\pm$ 0.15  | N.S                  |
| $\Sigma$ MUFA | 1.99 $\pm$ 0.32 | 1.71 $\pm$ 0.25 | N.S                  | 5.44 $\pm$ 0.32  | 5.97 $\pm$ 0.37  | N.S                  |
| $\Sigma$ PUFA | 4.96 $\pm$ 0.39 | 4.85 $\pm$ 0.45 | N.S                  | 10.39 $\pm$ 0.32 | 10.58 $\pm$ 0.58 | N.S                  |
| $\Sigma$ HUFA | 4.74 $\pm$ 0.38 | 4.64 $\pm$ 0.35 | N.S                  | 10.19 $\pm$ 0.32 | 10.30 $\pm$ 0.56 | N.S                  |
| $\Sigma$ DMA  | 0.83 $\pm$ 0.13 | 0.75 $\pm$ 0.12 | N.S                  | 0.64 $\pm$ 0.15  | 0.81 $\pm$ 0.20  | N.S                  |
| (n-3/n-6)     | 3.58 $\pm$ 0.12 | 3.69 $\pm$ 0.13 | N.S                  | 4.97 $\pm$ 0.33  | 4.90 $\pm$ 0.28  | N.S                  |
| TOTAL         | 9.24 $\pm$ 0.52 | 8.59 $\pm$ 0.65 | N.S                  | 21.09 $\pm$ 0.56 | 22.28 $\pm$ 0.80 | N.S                  |

DMA= dimetil-acetal;  $\Sigma$  SAT= ácidos grasos saturados totales;  $\Sigma$  MUFA= ácidos grasos monoinsaturados totales;  $\Sigma$  PUFA= ácidos grasos polinsaturados totales;  $\Sigma$  HUFA ácidos grasos altamente insaturados totales.

**Tabla VI.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el cerebro de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO  | FRACCIÓN NEUTRA |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|--------------|-----------------|---------------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|
|              | HEMBRAS         | MACHOS        |                      | HEMBRAS        | MACHOS        |                      |
| 14:0         | 0.65 ± 0.27     | 0.44 ± 0.14   | N.S                  | 0.42 ± 0.14    | 0.45 ± 0.12   | N.S                  |
| 16:0         | 9.33 ± 0.45     | 8.58 ± 0.41   | N.S                  | 13.99 ± 0.54   | 14.39 ± 0.29  | N.S                  |
| 18:0         | 8.02 ± 0.42     | 7.95 ± 0.35   | N.S                  | 7.67 ± 0.34    | 7.84 ± 0.17   | N.S                  |
| 20:0         | 0.39 ± 0.13     | 0.43 ± 0.18   | N.S                  | 0.58 ± 0.17    | 0.53 ± 0.11   | N.S                  |
| 18:0DMA      | 6.48 ± 0.52     | 6.32 ± 0.44   | N.S                  | 2.13 ± 0.27    | 2.50 ± 0.22   | 0.093                |
| 18:1DMA      | 2.43 ± 0.35     | 2.20 ± 0.26   | N.S                  | 0.89 ± 0.15    | 1.10 ± 0.17   | <b>0.024</b>         |
| 16:1n-9      | 1.19 ± 0.22     | 1.08 ± 0.16   | N.S                  | 0.94 ± 0.13    | 0.96 ± 0.16   | N.S                  |
| 16:1n-7      | 2.44 ± 0.45     | 1.95 ± 0.23   | N.S                  | 2.52 ± 0.23    | 2.62 ± 0.17   | N.S                  |
| 18:1n-9      | 11.85 ± 0.48    | 10.85 ± 0.36  | N.S                  | 18.76 ± 0.55   | 19.58 ± 0.46  | N.S                  |
| 18:1n-7      | 2.01 ± 0.32     | 1.78 ± 0.24   | N.S                  | 1.61 ± 0.22    | 1.52 ± 0.14   | N.S                  |
| 20:1n-9      | 0.57 ± 0.13     | 0.60 ± 0.11   | N.S                  | 0.48 ± 0.11    | 0.49 ± 0.12   | N.S                  |
| 20:1n-7      | 0.26 ± 0.12     | 0.29 ± 0.15   | N.S                  | 0.24 ± 0.07    | 0.24 ± 0.09   | N.S                  |
| 22:1n-9      | 0.59 ± 0.25     | 0.77 ± 0.25   | N.S                  | 0.38 ± 0.16    | 0.37 ± 0.12   | N.S                  |
| 18:2n-6      | 0.64 ± 0.19     | 0.68 ± 0.21   | N.S                  | 0.29 ± 0.16    | 0.41 ± 0.16   | N.S                  |
| 18:3n-6      | 0.40 ± 0.17     | 0.42 ± 0.12   | N.S                  | 0.18 ± 0.13    | 0.19 ± 0.11   | N.S                  |
| 18:3n-3      | 0.72 ± 0.30     | 0.57 ± 0.20   | N.S                  | 0.21 ± 0.14    | 0.27 ± 0.09   | N.S                  |
| 18:4n-3      | 0.56 ± 0.25     | 0.62 ± 0.21   | N.S                  | 0.31 ± 0.16    | 0.31 ± 0.12   | N.S                  |
| 20:2n-6      | 0.33 ± 0.19     | 0.40 ± 0.11   | N.S                  | 0.17 ± 0.11    | 0.15 ± 0.08   | N.S                  |
| 20:3n-6      | 0.27 ± 0.18     | 0.37 ± 0.17   | N.S                  | 0.14 ± 0.09    | 0.20 ± 0.11   | 0.094                |
| 20:4n-6      | 6.79 ± 0.39     | 6.81 ± 0.29   | N.S                  | 4.72 ± 0.18    | 4.62 ± 0.32   | N.S                  |
| 20:5n-3      | 1.29 ± 0.47     | 1.99 ± 0.55   | N.S                  | 0.75 ± 0.22    | 0.62 ± 0.10   | N.S                  |
| 21:4n-6      | 1.06 ± 0.20     | 1.27 ± 0.21   | N.S                  | 1.42 ± 0.27    | 1.26 ± 0.26   | N.S                  |
| 22:4n-6      | 1.56 ± 0.18     | 1.49 ± 0.18   | N.S                  | 0.85 ± 0.12    | 0.78 ± 0.19   | N.S                  |
| 22:5n-6      | 0.71 ± 0.18     | 0.71 ± 0.17   | N.S                  | 0.56 ± 0.19    | 0.44 ± 0.14   | N.S                  |
| 22:5n-3      | 0.89 ± 0.32     | 0.75 ± 0.17   | N.S                  | 0.51 ± 0.15    | 0.40 ± 0.15   | N.S                  |
| 22:6n-3cis   | 4.62 ± 0.55     | 5.37 ± 0.69   | N.S                  | 9.27 ± 0.74    | 8.88 ± 0.62   | N.S                  |
| 22:6n-3trans | 23.67 ± 0.61    | 23.67 ± 0.69  | N.S                  | 21.33 ± 0.93   | 20.96 ± 0.74  | N.S                  |
| 24:5n-3      | 9.13 ± 0.59     | 10.33 ± 0.57  | N.S                  | 5.94 ± 0.57    | 5.60 ± 0.40   | N.S                  |
| 24:6n-3      | 1.16 ± 0.19     | 1.30 ± 0.21   | N.S                  | 2.74 ± 0.32    | 2.31 ± 0.31   | N.S                  |
| Σ SAT        | 24.88 ± 0.52    | 23.71 ± 0.24  | 0.094                | 24.79 ± 0.64   | 25.71 ± 0.35  | N.S                  |
| Σ MUFA       | 21.33 ± 0.63    | 19.54 ± 0.54  | N.S                  | 25.81 ± 0.53   | 26.88 ± 0.41  | N.S                  |
| Σ PUFA       | 53.79 ± 0.56    | 56.75 ± 0.49  | <b>0.010</b>         | 49.40 ± 0.65   | 47.41 ± 0.36  | 0.080                |
| Σ HUFA       | 51.43 ± 0.61    | 54.30 ± 0.57  | <b>0.032</b>         | 48.41 ± 0.65   | 46.19 ± 0.35  | <b>0.050</b>         |
| Σ DMA        | 8.91 ± 0.62     | 8.52 ± 0.51   | N.S                  | 3.02 ± 0.29    | 3.61 ± 0.26   | <b>0.042</b>         |
| (22:6/20:5)  | 33.89 ± 1.96    | 25.01 ± 1.96  | N.S                  | 43.53 ± 1.50   | 48.56 ± 0.92  | N.S                  |
| Sat Index    | 304.06 ± 1.27   | 317.47 ± 1.25 | <b>0.028</b>         | 296.41 ± 1.54  | 286.11 ± 0.78 | 0.096                |

Ver tabla V para abreviaciones.

### 8.1. b. Gónada

Las concentraciones (mg/g) de ácidos grasos en la gónada de ambos sexos se muestran en la tabla VII, se puede observar que dentro de la fracción neutra la concentración de 20:1n-7 y 20:4n-6 fueron significativamente mayores en machos ( $P<0.05$ ; Tabla VII) mientras que la relación (n-3/n-6) fue mayor en hembras ( $P<0.05$ ; Tabla VII). Los ácidos 20:0 y 22:1n-9 tendieron a ser mayores en la gonada de machos y para el resto de los ácidos grasos no se presentó diferencia significativa. Dentro de la fracción polar los ácidos grasos 20:0, 20:1n-9, 20:1n-7, 22:1n-9, 18:2n-6 y 18:3n-3 fueron significativamente mayores en los machos ( $P<0.05$ ; Tabla VII), mientras que el 16:1n-7, 22:5n-6 y el total de monoinsaturados solo tendieron a ser mayores en machos. Únicamente los ácidos 24:5n-3 y 24:6n-3 fueron significativamente mayores en hembras ( $P<0.05$ ; Tabla VII) y el resto de las concentraciones no presentaron diferencias significativas. Las proporciones en la fracción neutra de los ácidos 16:0, 18:1n-9, 21:4n-6, el total de ácidos grasos saturados fueron significativamente mayores en hembras ( $P<0.05$ ; Tabla VIII) mientras que el 20:1n-7, 18:2n-6, 20:4n-6 y los polinsaturados totales fueron significativamente mayores en machos ( $P<0.05$ ; Tabla VIII). Dentro de la fracción polar los ácidos grasos 20:0, 16:1n-7, 20:1n-9, 20:1n-7, 22:1n-9, 18:2n-6, 18:3n-3, y los monoinsaturados totales fueron significativamente mayores en machos ( $P<0.05$ ; Tabla VIII), mientras que en las hembras los ácidos grasos 14:0, 16:0, 24:5n-3 y 24:6n-3 así como el total de ácidos grasos saturados, fueron significativamente mayores ( $P<0.05$ ; Tabla VIII).

**Tabla VII.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en la gónada de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO | FRACCIÓN NEUTRA |              | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |             | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|-------------|-----------------|--------------|----------------------|----------------|-------------|----------------------|
|             | HEMBRAS         | MACHOS       |                      | HEMBRAS        | MACHOS      |                      |
| 14:0        | 0.16 ± 0.05     | 0.12 ± 0.05  | N.S                  | 0.03 ± 0.01    | 0.03 ± 0.01 | N.S                  |
| 16:0        | 1.52 ± 0.12     | 1.09 ± 0.15  | N.S                  | 0.76 ± 0.06    | 0.66 ± 0.08 | N.S                  |
| 18:0        | 0.46 ± 0.15     | 0.38 ± 0.11  | N.S                  | 0.25 ± 0.08    | 0.28 ± 0.02 | N.S                  |
| 20:0        | 0.03 ± 0.01     | 0.05 ± 0.01  | 0.070                | 0.01 ± 0.00    | 0.03 ± 0.01 | <b>0.000</b>         |
| 16:1n-9     | 0.16 ± 0.05     | 0.14 ± 0.02  | N.S                  | 0.05 ± 0.02    | 0.06 ± 0.02 | N.S                  |
| 16:1n-7     | 0.71 ± 0.15     | 0.54 ± 0.11  | N.S                  | 0.05 ± 0.03    | 0.10 ± 0.05 | 0.091                |
| 18:1n-9     | 1.05 ± 0.09     | 0.65 ± 0.03  | N.S                  | 0.28 ± 0.07    | 0.33 ± 0.02 | N.S                  |
| 18:1n-7     | 0.49 ± 0.15     | 0.46 ± 0.05  | N.S                  | 0.11 ± 0.05    | 0.16 ± 0.01 | N.S                  |
| 20:1n-9     | 0.08 ± 0.02     | 0.09 ± 0.02  | N.S                  | 0.02 ± 0.01    | 0.06 ± 0.01 | <b>0.000</b>         |
| 20:1n-7     | 0.03 ± 0.01     | 0.06 ± 0.01  | <b>0.013</b>         | 0.01 ± 0.00    | 0.05 ± 0.00 | <b>0.000</b>         |
| 22:1n-9     | 0.04 ± 0.02     | 0.06 ± 0.01  | 0.090                | 0.02 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | <b>0.006</b>         |
| 18:2n-6     | 0.22 ± 0.06     | 0.37 ± 0.12  | N.S                  | 0.03 ± 0.00    | 0.12 ± 0.02 | <b>0.001</b>         |
| 18:3n-6     | 0.06 ± 0.01     | 0.06 ± 0.01  | N.S                  | 0.01 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 18:3n-3     | 0.33 ± 0.11     | 0.43 ± 0.15  | N.S                  | 0.02 ± 0.01    | 0.07 ± 0.01 | <b>0.003</b>         |
| 18:4n-3     | 0.12 ± 0.01     | 0.05 ± 0.01  | N.S                  | 0.01 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:2n-6     | 0.04 ± 0.01     | 0.05 ± 0.02  | N.S                  | 0.01 ± 0.00    | 0.01 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:3n-6     | 0.05 ± 0.02     | 0.09 ± 0.01  | N.S                  | 0.02 ± 0.01    | 0.03 ± 0.01 | N.S                  |
| 20:4n-6     | 0.60 ± 0.06     | 1.48 ± 0.15  | <b>0.050</b>         | 0.39 ± 0.011   | 0.44 ± 0.11 | N.S                  |
| 20:5n-3     | 0.34 ± 0.12     | 0.15 ± 0.04  | N.S                  | 0.10 ± 0.02    | 0.06 ± 0.01 | N.S                  |
| 21:4n-6     | 0.06 ± 0.02     | 0.04 ± 0.01  | N.S                  | 0.03 ± 0.01    | 0.03 ± 0.01 | N.S                  |
| 22:4n-6     | 0.11 ± 0.09     | 0.11 ± 0.04  | N.S                  | 0.05 ± 0.00    | 0.05 ± 0.00 | N.S                  |
| 22:5n-6     | 0.24 ± 0.09     | 0.37 ± 0.11  | N.S                  | 0.08 ± 0.01    | 0.13 ± 0.02 | 0.060                |
| 22:5n-3     | 0.34 ± 0.11     | 0.49 ± 0.13  | N.S                  | 0.08 ± 0.02    | 0.09 ± 0.02 | N.S                  |
| 22:6n-3     | 2.40 ± 0.09     | 2.62 ± 0.15  | N.S                  | 0.85 ± 0.15    | 1.05 ± 0.11 | N.S                  |
| 24:5n-3     | 0.04 ± 0.1      | 0.04 ± 0.01  | N.S                  | 0.07 ± 0.02    | 0.04 ± 0.01 | <b>0.034</b>         |
| 24:6n-3     | 0.07 ± 0.2      | 0.04 ± 0.02  | N.S                  | 0.03 ± 0.01    | 0.02 ± 0.00 | <b>0.013</b>         |
| Σ SAT       | 2.18 ± 0.21     | 1.64 ± 0.15  | N.S                  | 1.06 ± 0.12    | 1.00 ± 0.02 | N.S                  |
| Σ MUFA      | 2.55 ± 0.35     | 1.99 ± 0.25  | N.S                  | 0.54 ± 0.25    | 0.79 ± 0.15 | 0.072                |
| Σ PUFA      | 5.03 ± 0.45     | 6.39 ± 0.46  | N.S                  | 1.79 ± 0.36    | 2.18 ± 0.30 | N.S                  |
| Σ HUFA      | 4.32 ± 0.35     | 5.39 ± 0.65  | N.S                  | 1.69 ± 0.33    | 1.93 ± 0.30 | N.S                  |
| (n-3/n-6)   | 2.48 ± 0.25     | 1.59 ± 0.35  | <b>0.031</b>         | 1.86 ± 0.34    | 1.69 ± 0.26 | N.S                  |
| TOTAL       | 9.76 ± 1.07     | 10.02 ± 0.99 | N.S                  | 3.39 ± 0.47    | 3.97 ± 0.39 | N.S                  |

Ver tabla V para abreviaciones.

**Tabla VIII.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en la gónada de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO | FRACCIÓN NEUTRA |                | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|-------------|-----------------|----------------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|
|             | HEMBRAS         | MACHOS         |                      | HEMBRAS        | MACHOS        |                      |
| 14:0        | 1.75 ± 0.37     | 1.12 ± 0.23    | 0.089                | 0.97 ± 0.18    | 0.76 ± 0.13   | <b>0.040</b>         |
| 16:0        | 15.18 ± 0.59    | 10.73 ± 0.55   | <b>0.003</b>         | 22.79 ± 0.61   | 16.59 ± 0.41  | <b>0.000</b>         |
| 18:0        | 5.25 ± 0.51     | 4.12 ± 0.47    | N.S                  | 7.50 ± 0.21    | 7.11 ± 0.33   | N.S                  |
| 20:0        | 0.39 ± 0.15     | 0.61 ± 0.21    | 0.075                | 0.34 ± 0.14    | 0.84 ± 0.16   | <b>0.000</b>         |
| 16:1n-9     | 1.62 ± 0.25     | 1.32 ± 0.19    | 0.094                | 1.41 ± 0.26    | 1.40 ± 0.14   | N.S                  |
| 16:1n-7     | 6.05 ± 0.91     | 5.04 ± 0.54    | N.S                  | 1.47 ± 0.36    | 2.49 ± 0.34   | <b>0.030</b>         |
| 18:1n-9     | 9.78 ± 0.66     | 6.43 ± 0.29    | <b>0.010</b>         | 8.32 ± 0.42    | 8.47 ± 0.35   | N.S                  |
| 18:1n-7     | 4.80 ± 0.58     | 4.85 ± 0.45    | N.S                  | 2.97 ± 0.45    | 4.04 ± 0.32   | <b>0.070</b>         |
| 20:1n-9     | 0.87 ± 0.26     | 0.98 ± 0.26    | N.S                  | 0.69 ± 0.17    | 1.54 ± 0.15   | <b>0.000</b>         |
| 20:1n-7     | 0.36 ± 0.17     | 0.75 ± 0.26    | <b>0.040</b>         | 0.29 ± 0.14    | 1.24 ± 0.19   | <b>0.000</b>         |
| 22:1n-9     | 0.47 ± 0.18     | 0.66 ± 0.23    | N.S                  | 0.50 ± 0.15    | 0.86 ± 0.13   | <b>0.001</b>         |
| 18:2n-6     | 2.09 ± 0.40     | 3.70 ± 0.49    | <b>0.037</b>         | 0.93 ± 0.22    | 3.04 ± 0.37   | <b>0.000</b>         |
| 18:3n-6     | 0.60 ± 0.20     | 0.56 ± 0.22    | N.S                  | 0.41 ± 0.13    | 0.46 ± 0.14   | N.S                  |
| 18:3n-3     | 2.77 ± 0.64     | 4.09 ± 0.50    | N.S                  | 0.65 ± 0.15    | 1.81 ± 0.34   | <b>0.003</b>         |
| 18:4n-3     | 0.99 ± 0.38     | 0.46 ± 0.19    | N.S                  | 0.41 ± 0.09    | 0.44 ± 0.18   | N.S                  |
| 20:2n-6     | 0.52 ± 0.26     | 0.55 ± 0.19    | N.S                  | 0.41 ± 0.21    | 0.37 ± 0.13   | N.S                  |
| 20:3n-6     | 0.69 ± 0.29     | 0.94 ± 0.26    | N.S                  | 0.56 ± 0.17    | 0.75 ± 0.20   | N.S                  |
| 20:4n-6     | 7.18 ± 0.71     | 14.19 ± 0.92   | <b>0.012</b>         | 12.06 ± 0.79   | 10.81 ± 0.78  | N.S                  |
| 20:5n-3     | 2.83 ± 0.59     | 1.43 ± 0.26    | N.S                  | 2.90 ± 0.55    | 1.56 ± 0.26   | 0.092                |
| 21:4n-6     | 0.68 ± 0.18     | 0.45 ± 0.15    | <b>0.032</b>         | 0.79 ± 0.20    | 0.81 ± 0.22   | N.S                  |
| 22:4n-6     | 1.45 ± 0.41     | 1.15 ± 0.27    | N.S                  | 1.47 ± 0.29    | 1.18 ± 0.19   | N.S                  |
| 22:5n-6     | 2.62 ± 0.56     | 3.77 ± 0.37    | N.S                  | 2.30 ± 0.44    | 3.21 ± 0.36   | N.S                  |
| 22:5n-3     | 3.27 ± 0.51     | 4.64 ± 0.49    | N.S                  | 2.40 ± 0.41    | 2.36 ± 0.18   | N.S                  |
| 22:6n-3     | 26.44 ± 1.41    | 26.63 ± 1.07   | N.S                  | 24.35 ± 1.12   | 26.40 ± 0.72  | N.S                  |
| 24:5n-3     | 0.56 ± 0.24     | 0.41 ± 0.18    | N.S                  | 2.18 ± 0.41    | 1.05 ± 0.21   | <b>0.020</b>         |
| 24:6n-3     | 0.80 ± 0.27     | 0.42 ± 0.19    | 0.065                | 0.94 ± 0.25    | 0.41 ± 0.14   | <b>0.006</b>         |
| Σ SAT       | 22.57 ± 0.71    | 16.57 ± 0.64   | <b>0.003</b>         | 31.60 ± 0.61   | 25.30 ± 0.47  | <b>0.000</b>         |
| Σ MUFA      | 23.94 ± 1.18    | 20.04 ± 0.61   | N.S                  | 15.65 ± 0.65   | 20.03 ± 0.60  | <b>0.008</b>         |
| Σ PUFA      | 53.49 ± 1.20    | 63.39 ± 0.61   | <b>0.018</b>         | 52.75 ± 0.71   | 54.67 ± 0.55  | N.S                  |
| Σ HUFA      | 46.82 ± 1.39    | 53.54 ± 0.56   | N.S                  | 49.79 ± 0.70   | 48.23 ± 0.70  | N.S                  |
| (22:6/20:5) | 13.71 ± 1.35    | 19.29 ± 0.95   | N.S                  | 11.87 ± 1.34   | 17.67 ± 0.95  | N.S                  |
| Sat Index   | 292.38 ± 2.65   | 323.83 ± 1.223 | N.S                  | 282.70 ± 1.25  | 290.65 ± 1.23 | N.S                  |

Ver tabla V para abreviaciones.

### 8.1. c. Hígado

En la fracción neutra del hígado las concentraciones de los ácidos grasos no presentaron diferencias entre ambos sexos, en la fracción polar el 18:1n-9 y en consecuencia el total de monoinsaturados fueron significativamente mayores en hembras ( $P<0.05$ ; Tabla IX), mientras que en los machos el 18:2n-6 tendió a ser mayor, sin presentar una diferencias significativa.

En cuanto a las proporciones de ácidos grasos en la fracción neutra, el 18:0, 20:0, 20:1n-9, 22:1n-9 y 20:2n-6 fueron significativamente mayores en machos ( $P<0.05$ ; Tabla X), mientras que el 16:1n-7 fué mayor en hembras. En cuanto a tendencias no significativas podemos mencionar una mayor proporción de 20:1n-7, 18:2n-6, 20:4n-6 pero una menor proporción de 16:0 en machos. Dentro de la fracción polar el 18:1n-9 fue mayor en hembras y el 18:2n-6 fue mayor en machos y una tendencia a mayor proporción de PUFA, HUFA e índice de saturación en machos, ambos ácidos presentaron diferencias significativas entre los sexos.

**Tabla IX.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el hígado de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO | FRACCIÓN NEUTRA |              | P < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |             | P < 0.05 SEXO |
|-------------|-----------------|--------------|---------------|----------------|-------------|---------------|
|             | HEMBRAS         | MACHOS       |               | HEMBRAS        | MACHOS      |               |
| 14:0        | 0.22 ± 0.02     | 0.18 ± 0.05  | N.S           | 0.07 ± 0.02    | 0.06 ± 0.02 | N.S           |
| 16:0        | 7.20 ± 0.09     | 2.80 ± 0.05  | N.S           | 1.85 ± 0.15    | 1.51 ± 0.01 | N.S           |
| 18:0        | 1.57 ± 0.04     | 1.28 ± 0.12  | N.S           | 0.81 ± 0.11    | 0.70 ± 0.12 | N.S           |
| 20:0        | 0.05 ± 0.01     | 0.05 ± 0.01  | N.S           | 0.02 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S           |
| 16:1n-9     | 0.77 ± 0.02     | 0.31 ± 0.06  | N.S           | 0.10 ± 0.01    | 0.09 ± 0.01 | N.S           |
| 16:1n-7     | 4.75 ± 0.15     | 0.98 ± 0.09  | N.S           | 0.12 ± 0.02    | 0.09 ± 0.02 | N.S           |
| 18:1n-9     | 5.48 ± 0.16     | 1.93 ± 0.11  | N.S           | 0.67 ± 0.06    | 0.38 ± 0.11 | <b>0.016</b>  |
| 18:1n-7     | 2.46 ± 0.13     | 1.36 ± 0.13  | N.S           | 0.25 ± 0.08    | 0.28 ± 0.09 | N.S           |
| 20:1n-9     | 0.16 ± 0.05     | 0.11 ± 0.04  | N.S           | 0.02 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | N.S           |
| 20:1n-7     | 0.06 ± 0.01     | 0.05 ± 0.01  | N.S           | 0.02 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S           |
| 22:1n-9     | 0.06 ± 0.02     | 0.07 ± 0.00  | N.S           | 0.05 ± 0.00    | 0.05 ± 0.00 | N.S           |
| 18:2n-6     | 1.06 ± 0.05     | 0.68 ± 0.05  | N.S           | 0.08 ± 0.02    | 0.10 ± 0.01 | 0.099         |
| 18:3n-6     | 0.37 ± 0.11     | 0.17 ± 0.06  | N.S           | 0.05 ± 0.01    | 0.03 ± 0.01 | N.S           |
| 18:3n-3     | 1.66 ± 0.02     | 0.65 ± 0.12  | N.S           | 0.08 ± 0.00    | 0.07 ± 0.00 | N.S           |
| 18:4n-3     | 0.55 ± 0.02     | 0.13 ± 0.01  | N.S           | 0.05 ± 0.02    | 0.04 ± 0.02 | N.S           |
| 20:2n-6     | 0.06 ± 0.01     | 0.07 ± 0.02  | N.S           | 0.03 ± 0.01    | 0.04 ± 0.00 | N.S           |
| 20:3n-6     | 0.17 ± 0.02     | 0.10 ± 0.03  | N.S           | 0.04 ± 0.00    | 0.04 ± 0.00 | N.S           |
| 20:4n-6     | 1.07 ± 0.06     | 0.64 ± 0.11  | N.S           | 0.83 ± 0.11    | 0.87 ± 0.09 | N.S           |
| 20:5n-3     | 0.47 ± 0.05     | 0.17 ± 0.09  | N.S           | 0.14 ± 0.09    | 0.16 ± 0.09 | N.S           |
| 21:4n-6     | 0.11 ± 0.04     | 0.07 ± 0.01  | N.S           | 0.07 ± 0.01    | 0.08 ± 0.01 | N.S           |
| 22:4n-6     | 0.37 ± 0.09     | 0.30 ± 0.05  | N.S           | 0.19 ± 0.09    | 0.16 ± 0.03 | N.S           |
| 22:5n-6     | 0.46 ± 0.11     | 0.44 ± 0.07  | N.S           | 0.24 ± 0.11    | 0.25 ± 0.08 | N.S           |
| 22:5n-3     | 1.77 ± 0.07     | 0.70 ± 0.15  | N.S           | 0.25 ± 0.08    | 0.23 ± 0.07 | N.S           |
| 22:6n-3     | 5.72 ± 0.12     | 3.65 ± 0.35  | N.S           | 4.16 ± 0.30    | 3.85 ± 0.15 | N.S           |
| 24:5n-3     | 0.08 ± 0.01     | 0.09 ± 0.02  | N.S           | 0.16 ± 0.08    | 0.10 ± 0.02 | N.S           |
| 24:6n-3     | 0.06 ± 0.01     | 0.09 ± 0.02  | N.S           | 0.05 ± 0.01    | 0.04 ± 0.00 | N.S           |
| Σ SAT       | 9.05 ± 0.09     | 4.31 ± 0.71  | N.S           | 2.75 ± 0.12    | 2.29 ± 0.15 | N.S           |
| Σ MUFA      | 13.73 ± 0.58    | 4.81 ± 0.76  | N.S           | 1.23 ± 0.17    | 0.94 ± 0.11 | <b>0.048</b>  |
| Σ PUFA      | 13.99 ± 0.58    | 7.95 ± 0.45  | N.S           | 6.42 ± 0.53    | 6.05 ± 0.34 | N.S           |
| Σ HUFA      | 10.66 ± 0.98    | 6.29 ± 0.35  | N.S           | 6.14 ± 0.52    | 5.77 ± 0.35 | N.S           |
| (n-3/n-6)   | 2.48 ± 0.38     | 2.12 ± 0.35  | N.S           | 3.25 ± 0.31    | 2.89 ± 0.25 | N.S           |
| TOTAL       | 36.77 ± 2.54    | 17.06 ± 1.47 | N.S           | 10.40 ± 0.62   | 9.29 ± 0.58 | N.S           |

Ver tabla V para abreviaciones.

**Tabla X.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el hígado de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO | FRACCIÓN NEUTRA |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|-------------|-----------------|---------------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|
|             | HEMBRAS         | MACHOS        |                      | HEMBRAS        | MACHOS        |                      |
| 14:0        | 0.97 ± 0.39     | 1.08 ± 0.19   | N.S                  | 0.68 ± 0.27    | 0.62 ± 0.14   | N.S                  |
| 16:0        | 21.47 ± 0.92    | 16.64 ± 0.72  | 0.060                | 17.82 ± 0.67   | 16.34 ± 0.65  | N.S                  |
| 18:0        | 4.42 ± 0.31     | 7.90 ± 0.50   | <b>0.000</b>         | 7.85 ± 0.51    | 7.56 ± 0.30   | N.S                  |
| 20:0        | 0.16 ± 0.13     | 0.32 ± 0.14   | <b>0.025</b>         | 0.18 ± 0.10    | 0.22 ± 0.09   | N.S                  |
| 16:1n-9     | 2.37 ± 0.50     | 1.88 ± 0.25   | N.S                  | 0.98 ± 0.19    | 0.96 ± 0.11   | N.S                  |
| 16:1n-7     | 11.09 ± 1.03    | 5.40 ± 0.56   | <b>0.050</b>         | 1.23 ± 0.32    | 0.94 ± 0.24   | N.S                  |
| 18:1n-9     | 13.75 ± 0.79    | 10.99 ± 0.65  | N.S                  | 6.43 ± 0.56    | 4.09 ± 0.30   | <b>0.012</b>         |
| 18:1n-7     | 7.06 ± 0.75     | 8.15 ± 0.53   | N.S                  | 2.46 ± 0.43    | 3.01 ± 0.46   | N.S                  |
| 20:1n-9     | 0.44 ± 0.17     | 0.68 ± 0.17   | <b>0.024</b>         | 0.24 ± 0.13    | 0.30 ± 0.15   | N.S                  |
| 20:1n-7     | 0.19 ± 0.14     | 0.35 ± 0.17   | 0.085                | 0.18 ± 0.11    | 0.25 ± 0.17   | N.S                  |
| 22:1n-9     | 0.24 ± 0.16     | 0.47 ± 0.20   | <b>0.050</b>         | 0.52 ± 0.25    | 0.57 ± 0.21   | N.S                  |
| 18:2n-6     | 2.84 ± 0.37     | 4.06 ± 0.47   | <b>0.068</b>         | 0.72 ± 0.20    | 1.10 ± 0.22   | <b>0.026</b>         |
| 18:3n-6     | 1.11 ± 0.35     | 0.97 ± 0.26   | N.S                  | 0.45 ± 0.23    | 0.31 ± 0.17   | N.S                  |
| 18:3n-3     | 3.51 ± 0.59     | 3.51 ± 0.45   | N.S                  | 0.81 ± 0.26    | 0.80 ± 0.23   | N.S                  |
| 18:4n-3     | 1.04 ± 0.37     | 0.72 ± 0.19   | N.S                  | 0.48 ± 0.20    | 0.38 ± 0.20   | N.S                  |
| 20:2n-6     | 0.22 ± 0.14     | 0.47 ± 0.20   | <b>0.036</b>         | 0.34 ± 0.17    | 0.39 ± 0.20   | N.S                  |
| 20:3n-6     | 0.43 ± 0.16     | 0.65 ± 0.24   | N.S                  | 0.42 ± 0.16    | 0.49 ± 0.19   | N.S                  |
| 20:4n-6     | 2.90 ± 0.35     | 4.08 ± 0.49   | 0.086                | 7.97 ± 0.50    | 9.35 ± 0.54   | N.S                  |
| 20:5n-3     | 1.01 ± 0.32     | 1.16 ± 0.29   | N.S                  | 1.43 ± 0.42    | 1.71 ± 0.23   | N.S                  |
| 21:4n-6     | 0.40 ± 0.22     | 0.49 ± 0.20   | N.S                  | 0.71 ± 0.26    | 0.80 ± 0.21   | N.S                  |
| 22:4n-6     | 1.30 ± 0.43     | 1.90 ± 0.32   | N.S                  | 1.78 ± 0.32    | 1.70 ± 0.24   | N.S                  |
| 22:5n-6     | 1.76 ± 0.51     | 2.49 ± 0.35   | N.S                  | 2.23 ± 0.44    | 2.70 ± 0.32   | N.S                  |
| 22:5n-3     | 3.66 ± 0.62     | 3.92 ± 0.42   | N.S                  | 2.51 ± 0.52    | 2.44 ± 0.31   | N.S                  |
| 22:6n-3     | 17.09 ± 1.25    | 20.62 ± 0.93  | N.S                  | 39.58 ± 0.87   | 41.39 ± 0.45  | N.S                  |
| 24:5n-3     | 0.33 ± 0.11     | 0.60 ± 0.24   | N.S                  | 1.50 ± 0.34    | 1.09 ± 0.24   | N.S                  |
| 24:6n-3     | 0.22 ± 0.09     | 0.49 ± 0.25   | N.S                  | 0.47 ± 0.15    | 0.47 ± 0.11   | N.S                  |
| Σ SAT       | 27.03 ± 0.94    | 25.94 ± 0.82  | N.S                  | 26.54 ± 0.76   | 24.74 ± 0.12  | N.S                  |
| Σ MUFA      | 35.14 ± 1.27    | 27.93 ± 0.93  | N.S                  | 12.04 ± 0.62   | 10.13 ± 0.64  | N.S                  |
| Σ PUFA      | 37.83 ± 1.39    | 46.13 ± 0.90  | N.S                  | 61.42 ± 0.89   | 65.13 ± 0.41  | 0.075                |
| Σ HUFA      | 29.71 ± 1.42    | 36.48 ± 1.01  | N.S                  | 58.67 ± 0.85   | 62.04 ± 0.53  | 0.088                |
| (22:6/20:5) | 22.55 ± 1.80    | 19.62 ± 1.32  | N.S                  | 37.83 ± 2.12   | 24.65 ± 0.92  | N.S                  |
| Sat Index   | 216.67 ± 3.02   | 248.67 ± 2.15 | N.S                  | 341.69 ± 1.25  | 357.75 ± 0.95 | 0.090                |

Ver tabla V para abreviaciones.



#### 8.1. d. Músculo

En la fracción neutra del músculo, sólo se observó una tendencia a mayores concentraciones de los ácidos grasos 20:5n-3 y 24:5n-3 en hembras. En la fracción polar solamente el 18:2n-6 fue significativamente mayor en machos ( $P<0.05$ ; Tabla XI). El resto de los ácidos no presentaron diferencias significativas entre ambos sexos.

En relación a las proporciones de ácidos grasos en la fracción neutra el 18:0 y 18:2n-6 fueron significativamente mayores en machos ( $P<0.05$ ; Tabla XII), mientras que en las hembras el 20:5n-3 tendió a ser mayor sin presentar una diferencias significativa. En el caso de la fracción polar solamente el 18:2n-6 fue significativamente mayor en machos mientras que el 16:0 y 22:1n-9 tendieron a ser mayores en hembras. El resto de las proporciones no presentaron diferencias significativas.

**Tabla XI.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el músculo de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO | FRACCIÓN NEUTRA |             | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |             | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|-------------|-----------------|-------------|----------------------|----------------|-------------|----------------------|
|             | HEMBRAS         | MACHOS      |                      | HEMBRAS        | MACHOS      |                      |
| 14:0        | 0.02 ± 0.01     | 0.02 ± 0.00 | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 16:0        | 0.22 ± 0.02     | 0.17 ± 0.02 | N.S                  | 0.49 ± 0.09    | 0.48 ± 0.11 | N.S                  |
| 18:0        | 0.13 ± 0.04     | 0.14 ± 0.02 | N.S                  | 0.16 ± 0.02    | 0.17 ± 0.05 | N.S                  |
| 20:0        | 0.01 ± 0.00     | 0.01 ± 0.00 | N.S                  | 0.01 ± 0.00    | 0.01 ± 0.00 | N.S                  |
| 16:1n-9     | 0.02 ± 0.00     | 0.02 ± 0.00 | N.S                  | 0.03 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 16:1n-7     | 0.08 ± 0.01     | 0.04 ± 0.01 | N.S                  | 0.03 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 18:1n-9     | 0.13 ± 0.05     | 0.11 ± 0.01 | N.S                  | 0.14 ± 0.02    | 0.13 ± 0.01 | N.S                  |
| 18:1n-7     | 0.07 ± 0.01     | 0.07 ± 0.00 | N.S                  | 0.06 ± 0.01    | 0.06 ± 0.01 | N.S                  |
| 20:1n-9     | 0.01 ± 0.00     | 0.01 ± 0.00 | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.01 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:1n-7     | 0.01 ± 0.00     | 0.00 ± 0.00 | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 22:1n-9     | 0.01 ± 0.00     | 0.00 ± 0.00 | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 18:2n-6     | 0.03 ± 0.01     | 0.04 ± 0.01 | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.04 ± 0.00 | <b>0.017</b>         |
| 18:3n-6     | 0.02 ± 0.00     | 0.02 ± 0.00 | N.S                  | 0.01 ± 0.00    | 0.01 ± 0.00 | N.S                  |
| 18:3n-3     | 0.04 ± 0.00     | 0.03 ± 0.00 | N.S                  | 0.03 ± 0.00    | 0.04 ± 0.00 | N.S                  |
| 18:4n-3     | 0.01 ± 0.00     | 0.01 ± 0.00 | N.S                  | 0.01 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:2n-6     | 0.02 ± 0.00     | 0.02 ± 0.00 | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:3n-6     | 0.01 ± 0.00     | 0.01 ± 0.00 | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:4n-6     | 0.08 ± 0.02     | 0.07 ± 0.01 | N.S                  | 0.18 ± 0.05    | 0.19 ± 0.02 | N.S                  |
| 20:5n-3     | 0.04 ± 0.01     | 0.02 ± 0.00 | 0.080                | 0.08 ± 0.02    | 0.06 ± 0.01 | N.S                  |
| 21:4n-6     | 0.01 ± 0.00     | 0.01 ± 0.00 | N.S                  | 0.03 ± 0.01    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 22:4n-6     | 0.07 ± 0.05     | 0.05 ± 0.01 | N.S                  | 0.04 ± 0.00    | 0.04 ± 0.00 | N.S                  |
| 22:5n-6     | 0.04 ± 0.03     | 0.04 ± 0.02 | N.S                  | 0.08 ± 0.01    | 0.09 ± 0.01 | N.S                  |
| 22:5n-3     | 0.06 ± 0.01     | 0.05 ± 0.01 | N.S                  | 0.08 ± 0.02    | 0.08 ± 0.02 | N.S                  |
| 22:6n-3     | 0.43 ± 0.11     | 0.38 ± 0.12 | N.S                  | 0.84 ± 0.15    | 0.88 ± 0.11 | N.S                  |
| 24:5n-3     | 0.02 ± 0.00     | 0.01 ± 0.00 | 0.069                | 0.05 ± 0.01    | 0.04 ± 0.01 | N.S                  |
| 24:6n-3     | 0.01 ± 0.00     | 0.01 ± 0.00 | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| Σ SAT       | 0.38 ± 0.15     | 0.33 ± 0.09 | N.S                  | 0.68 ± 0.15    | 0.68 ± 0.19 | N.S                  |
| Σ MUFA      | 0.32 ± 0.11     | 0.27 ± 0.12 | N.S                  | 0.31 ± 0.11    | 0.29 ± 0.11 | N.S                  |
| Σ PUFA      | 0.90 ± 0.21     | 0.76 ± 0.19 | N.S                  | 1.50 ± 0.23    | 1.57 ± 0.25 | N.S                  |
| Σ HUFA      | 0.77 ± 0.21     | 0.65 ± 0.17 | N.S                  | 1.40 ± 0.21    | 1.45 ± 0.27 | N.S                  |
| (n-3/n-6)   | 2.08 ± 0.22     | 2.05 ± 0.20 | N.S                  | 2.90 ± 0.27    | 2.55 ± 0.25 | N.S                  |
| TOTAL       | 1.59 ± 0.31     | 1.36 ± 0.24 | N.S                  | 2.49 ± 0.29    | 2.55 ± 0.36 | N.S                  |

Ver tabla V para abreviaciones.

**Tabla XII.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el músculo de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO | FRACCIÓN NEUTRA |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|-------------|-----------------|---------------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|
|             | HEMBRAS         | MACHOS        |                      | HEMBRAS        | MACHOS        |                      |
| 14:0        | 1.33 ± 0.36     | 1.25 ± 0.29   | N.S                  | 0.75 ± 0.12    | 0.65 ± 0.18   | N.S                  |
| 16:0        | 13.63 ± 0.44    | 12.37 ± 0.54  | N.S                  | 19.66 ± 0.38   | 18.90 ± 0.31  | 0.086                |
| 18:0        | 8.31 ± 0.46     | 10.55 ± 0.48  | <b>0.020</b>         | 6.34 ± 0.44    | 6.46 ± 0.24   | N.S                  |
| 20:0        | 0.43 ± 0.16     | 0.47 ± 0.17   | N.S                  | 0.51 ± 0.20    | 0.47 ± 0.20   | N.S                  |
| 16:1n-9     | 1.49 ± 0.25     | 1.66 ± 0.41   | N.S                  | 1.06 ± 0.16    | 1.00 ± 0.22   | N.S                  |
| 16:1n-7     | 4.46 ± 0.70     | 2.76 ± 0.32   | N.S                  | 1.20 ± 0.21    | 1.07 ± 0.19   | N.S                  |
| 18:1n-9     | 8.34 ± 0.55     | 8.41 ± 0.34   | N.S                  | 5.49 ± 0.40    | 5.10 ± 0.33   | N.S                  |
| 18:1n-7     | 3.98 ± 0.60     | 5.42 ± 0.46   | N.S                  | 2.48 ± 0.29    | 2.41 ± 0.13   | N.S                  |
| 20:1n-9     | 0.54 ± 0.18     | 0.53 ± 0.14   | N.S                  | 0.66 ± 0.25    | 0.56 ± 0.17   | N.S                  |
| 20:1n-7     | 0.53 ± 0.35     | 0.33 ± 0.15   | N.S                  | 0.59 ± 0.26    | 0.66 ± 0.24   | N.S                  |
| 22:1n-9     | 0.38 ± 0.16     | 0.36 ± 0.09   | N.S                  | 0.91 ± 0.17    | 0.75 ± 0.16   | 0.090                |
| 18:2n-6     | 2.09 ± 0.32     | 2.82 ± 0.26   | <b>0.050</b>         | 0.92 ± 0.22    | 1.55 ± 0.19   | <b>0.002</b>         |
| 18:3n-6     | 1.53 ± 0.41     | 1.22 ± 0.26   | N.S                  | 0.47 ± 0.18    | 0.54 ± 0.20   | N.S                  |
| 18:3n-3     | 2.10 ± 0.50     | 2.43 ± 0.25   | N.S                  | 1.16 ± 0.15    | 1.41 ± 0.24   | N.S                  |
| 18:4n-3     | 0.76 ± 0.26     | 0.65 ± 0.10   | N.S                  | 0.62 ± 0.18    | 0.72 ± 0.16   | N.S                  |
| 20:2n-6     | 1.15 ± 0.28     | 1.37 ± 0.28   | N.S                  | 0.80 ± 0.22    | 0.71 ± 0.24   | N.S                  |
| 20:3n-6     | 0.80 ± 0.31     | 0.65 ± 0.21   | N.S                  | 0.81 ± 0.30    | 0.66 ± 0.11   | N.S                  |
| 20:4n-6     | 5.20 ± 0.41     | 5.35 ± 0.34   | N.S                  | 6.92 ± 0.56    | 7.69 ± 0.21   | N.S                  |
| 20:5n-3     | 2.47 ± 0.47     | 1.37 ± 0.12   | 0.090                | 3.04 ± 0.56    | 2.40 ± 0.25   | N.S                  |
| 21:4n-6     | 0.74 ± 0.26     | 0.65 ± 0.11   | N.S                  | 0.99 ± 0.21    | 1.32 ± 0.24   | N.S                  |
| 22:4n-6     | 4.38 ± 0.66     | 3.60 ± 0.41   | N.S                  | 1.42 ± 0.28    | 1.61 ± 0.33   | N.S                  |
| 22:5n-6     | 2.64 ± 0.46     | 2.70 ± 0.31   | N.S                  | 3.24 ± 0.49    | 3.46 ± 0.31   | N.S                  |
| 22:5n-3     | 3.68 ± 0.42     | 3.65 ± 0.31   | N.S                  | 3.03 ± 0.46    | 3.01 ± 0.22   | N.S                  |
| 22:6n-3     | 27.35 ± 0.84    | 28.13 ± 0.48  | N.S                  | 34.06 ± 0.91   | 34.28 ± 0.65  | N.S                  |
| 24:5n-3     | 1.07 ± 0.31     | 0.78 ± 0.13   | N.S                  | 1.88 ± 0.37    | 1.61 ± 0.22   | N.S                  |
| 24:6n-3     | 0.62 ± 0.23     | 0.54 ± 0.10   | N.S                  | 0.97 ± 0.16    | 0.99 ± 0.21   | N.S                  |
| Σ SAT       | 23.70 ± 0.64    | 24.64 ± 0.75  | N.S                  | 27.26 ± 0.45   | 26.49 ± 0.36  | N.S                  |
| Σ MUFA      | 19.72 ± 0.94    | 19.47 ± 0.61  | N.S                  | 12.39 ± 0.46   | 11.54 ± 0.30  | N.S                  |
| Σ PUFA      | 56.58 ± 0.89    | 55.90 ± 0.32  | N.S                  | 60.35 ± 0.61   | 61.97 ± 0.44  | N.S                  |
| Σ HUFA      | 48.91 ± 0.99    | 47.40 ± 0.56  | N.S                  | 56.17 ± 0.59   | 57.09 ± 0.41  | N.S                  |
| (22:6/20:5) | 16.12 ± 1.75    | 20.75 ± 0.70  | N.S                  | 15.12 ± 1.42   | 14.44 ± 0.53  | N.S                  |
| Sat index   | 300.92 ± 2.02   | 296.19 ± 1.25 | N.S                  | 329.14 ± 1.25  | 333.28 ± 1.13 | N.S                  |

Ver tabla V para abreviaciones.

### 8.1. e. Tejido adiposo.

Dentro de las concentraciones en este tejido solamente se encontraron diferencias en la fracción neutra, siendo los ácidos 18:0, 20:0, 20:1n-9, 20:1n-7 22:5n-6, 22:5n-3, 24:6n-3, el total de polinsaturados, altamente insaturados así como el total de ácidos grasos significativamente mayor en las hembras ( $P<0.05$ ; Tabla XIII). Así mismo el 16:0, 18:1n-9, saturados totales y la relación (n-3/n-6) tendieron a ser mayores en las hembras, aunque sin presentar valores significativamente diferentes entre ambos sexos. El resto de las concentraciones en ambas fracciones no presentaron diferencias significativas.

En relación a las proporciones en este tejido, se observa que en la fracción neutra el 16:1n-9 y 22:4n-6 son significativamente mayores en machos ( $P<0.05$ ; Tabla XIV), mientras que en esta misma fracción el 22:5n-6 tendió a ser mayor en hembras. Dentro de la fracción polar las proporciones de los ácidos grasos 18:0 y 20:0 fueron significativamente mayores en hembras. El resto de las proporciones no presentaron diferencias significativas entre ambos sexos.

**Tabla XIII.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el tejido adiposo de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO | FRACCIÓN NEUTRA |              | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |             | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|-------------|-----------------|--------------|----------------------|----------------|-------------|----------------------|
|             | HEMBRAS         | MACHOS       |                      | HEMBRAS        | MACHOS      |                      |
| 14:0        | 1.77 ± 0.45     | 1.01 ± 0.31  | N.S                  | 0.04 ± 0.00    | 0.04 ± 0.01 | N.S                  |
| 16:0        | 22.07 ± 1.21    | 11.22 ± 0.15 | 0.093                | 0.87 ± 0.11    | 0.89 ± 0.11 | N.S                  |
| 18:0        | 5.68 ± 0.56     | 2.67 ± 0.51  | <b>0.010</b>         | 0.59 ± 0.15    | 0.52 ± 0.11 | N.S                  |
| 20:0        | 0.27 ± 0.09     | 0.16 ± 0.05  | <b>0.034</b>         | 0.03 ± 0.00    | 0.02 ± 0.00 | N.S                  |
| 16:1n-9     | 1.83 ± 0.42     | 1.43 ± 0.16  | N.S                  | 0.06 ± 0.01    | 0.07 ± 0.01 | N.S                  |
| 16:1n-7     | 12.74 ± 1.61    | 4.83 ± 0.52  | N.S                  | 0.08 ± 0.02    | 0.08 ± 0.02 | N.S                  |
| 18:1n-9     | 17.60 ± 1.20    | 9.06 ± 0.86  | 0.072                | 0.29 ± 0.11    | 0.30 ± 0.09 | N.S                  |
| 18:1n-7     | 6.93 ± 0.82     | 3.89 ± 0.20  | N.S                  | 0.20 ± 0.09    | 0.22 ± 0.08 | N.S                  |
| 20:1n-9     | 0.70 ± 0.22     | 0.37 ± 0.14  | <b>0.036</b>         | 0.04 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:1n-7     | 0.27 ± 0.08     | 0.17 ± 0.06  | <b>0.050</b>         | 0.02 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 22:1n-9     | 0.15 ± 0.09     | 0.14 ± 0.04  | N.S                  | 0.03 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 18:2n-6     | 4.40 ± 0.15     | 2.24 ± 0.35  | N.S                  | 0.06 ± 0.01    | 0.07 ± 0.01 | N.S                  |
| 18:3n-6     | 1.20 ± 0.39     | 0.62 ± 0.09  | N.S                  | 0.04 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 18:3n-3     | 7.01 ± 1.34     | 2.28 ± 0.32  | N.S                  | 0.05 ± 0.01    | 0.06 ± 0.02 | N.S                  |
| 18:4n-3     | 2.08 ± 0.25     | 0.58 ± 0.25  | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.01 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:2n-6     | 0.30 ± 0.10     | 0.17 ± 0.09  | N.S                  | 0.02 ± 0.00    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:3n-6     | 0.48 ± 0.12     | 0.28 ± 0.14  | N.S                  | 1.03 ± 0.02    | 0.03 ± 0.00 | N.S                  |
| 20:4n-6     | 5.88 ± 0.45     | 3.29 ± 0.61  | N.S                  | 0.20 ± 0.05    | 0.98 ± 0.11 | N.S                  |
| 20:5n-3     | 4.21 ± 0.45     | 1.42 ± 0.15  | N.S                  | 0.05 ± 0.01    | 0.16 ± 0.04 | N.S                  |
| 21:4n-6     | 0.19 ± 0.09     | 0.21 ± 0.09  | N.S                  | 0.10 ± 0.03    | 0.06 ± 0.01 | N.S                  |
| 22:4n-6     | 0.51 ± 0.15     | 1.73 ± 0.26  | N.S                  | 0.18 ± 0.02    | 0.08 ± 0.01 | N.S                  |
| 22:5n-6     | 3.57 ± 0.76     | 0.28 ± 0.04  | <b>0.034</b>         | 0.23 ± 0.07    | 0.20 ± 0.08 | N.S                  |
| 22:5n-3     | 8.22 ± 0.54     | 3.70 ± 0.26  | <b>0.018</b>         | 0.04 ± 0.00    | 0.22 ± 0.07 | N.S                  |
| 22:6n-3     | 29.65 ± 1.98    | 13.34 ± 1.56 | N.S                  | 1.76 ± 0.12    | 1.73 ± 0.06 | N.S                  |
| 24:5n-3     | 0.14 ± 0.05     | 0.09 ± 0.01  | N.S                  | 0.16 ± 0.09    | 0.16 ± 0.04 | N.S                  |
| 24:6n-3     | 0.13 ± 0.02     | 0.06 ± 0.01  | <b>0.015</b>         | 0.05 ± 0.00    | 0.04 ± 0.01 | N.S                  |
| Σ SAT       | 29.78 ± 1.64    | 15.06 ± 1.21 | 0.065                | 1.53 ± 0.17    | 1.47 ± 0.14 | N.S                  |
| Σ MUFA      | 40.21 ± 2.12    | 19.89 ± 1.44 | N.S                  | 0.71 ± 0.11    | 0.76 ± 0.23 | N.S                  |
| Σ PUFA      | 67.97 ± 2.46    | 30.28 ± 2.02 | <b>0.050</b>         | 4.04 ± 0.89    | 3.94 ± 0.45 | N.S                  |
| Σ HUFA      | 54.59 ± 2.19    | 24.70 ± 1.91 | 0.058                | 3.84 ± 0.54    | 3.72 ± 0.35 | N.S                  |
| (n-3/n-6)   | 3.00 ± 0.36     | 2.21 ± 0.36  | 0.090                | 1.74 ± 0.77    | 1.69 ± 0.25 | N.S                  |
| TOTAL       | 137.97 ± 3.54   | 65.23 ± 2.75 | 0.057                | 6.28 ± 1.56    | 6.16 ± 0.72 | N.S                  |

Ver tabla V para abreviaciones.

**Tabla XIV.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra y polar en el tejido adiposo de reproductores de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla V para análisis estadístico.

| ÁCIDO GRASO | FRACCIÓN NEUTRA |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO | FRACCIÓN POLAR |               | <i>P</i> < 0.05 SEXO |
|-------------|-----------------|---------------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|
|             | HEMBRAS         | MACHOS        |                      | HEMBRAS        | MACHOS        |                      |
| 14:0        | 1.03 ± 0.41     | 3.41 ± 1.01   | N.S                  | 0.58 ± 0.21    | 0.64 ± 0.23   | N.S                  |
| 16:0        | 15.76 ± 0.50    | 16.50 ± 0.51  | N.S                  | 13.87 ± 0.32   | 14.44 ± 0.12  | N.S                  |
| 18:0        | 4.57 ± 0.60     | 4.33 ± 0.321  | N.S                  | 9.50 ± 0.26    | 8.53 ± 0.30   | <b>0.008</b>         |
| 20:0        | 0.21 ± 0.11     | 0.35 ± 0.11   | N.S                  | 0.55 ± 0.14    | 0.38 ± 0.11   | <b>0.036</b>         |
| 16:1n-9     | 1.30 ± 0.24     | 2.26 ± 0.21   | <b>0.001</b>         | 0.93 ± 0.12    | 1.17 ± 0.21   | N.S                  |
| 16:1n-7     | 8.71 ± 0.58     | 7.72 ± 0.41   | N.S                  | 1.48 ± 0.21    | 1.36 ± 0.21   | N.S                  |
| 18:1n-9     | 13.21 ± 0.54    | 13.17 ± 0.65  | N.S                  | 4.67 ± 0.32    | 4.79 ± 0.23   | N.S                  |
| 18:1n-7     | 5.12 ± 0.43     | 6.10 ± 0.12   | N.S                  | 3.29 ± 0.45    | 3.61 ± 0.65   | N.S                  |
| 20:1n-9     | 0.60 ± 0.27     | 0.68 ± 0.15   | N.S                  | 0.63 ± 0.21    | 0.54 ± 0.11   | N.S                  |
| 20:1n-7     | 0.21 ± 0.11     | 0.41 ± 0.12   | N.S                  | 0.41 ± 0.11    | 0.51 ± 0.12   | N.S                  |
| 22:1n-9     | 0.12 ± 0.01     | 0.39 ± 0.11   | N.S                  | 0.41 ± 0.12    | 0.53 ± 0.16   | N.S                  |
| 18:2n-6     | 3.31 ± 0.55     | 3.61 ± 0.42   | N.S                  | 1.09 ± 0.21    | 1.11 ± 0.12   | N.S                  |
| 18:3n-6     | 0.91 ± 0.31     | 1.05 ± 0.21   | N.S                  | 0.68 ± 0.23    | 0.62 ± 0.15   | N.S                  |
| 18:3n-3     | 4.12 ± 0.82     | 3.54 ± 0.38   | N.S                  | 0.94 ± 0.22    | 0.87 ± 0.14   | N.S                  |
| 18:4n-3     | 1.22 ± 0.47     | 1.00 ± 0.12   | N.S                  | 1.02 ± 0.12    | 1.32 ± 0.21   | N.S                  |
| 20:2n-6     | 0.20 ± 0.10     | 0.43 ± 0.12   | N.S                  | 0.34 ± 0.11    | 0.47 ± 0.12   | N.S                  |
| 20:3n-6     | 0.42 ± 0.25     | 0.53 ± 0.11   | N.S                  | 0.39 ± 0.06    | 0.47 ± 0.11   | N.S                  |
| 20:4n-6     | 4.40 ± 0.51     | 4.89 ± 0.45   | N.S                  | 16.02 ± 0.54   | 15.89 ± 0.24  | N.S                  |
| 20:5n-3     | 2.86 ± 0.63     | 2.52 ± 0.32   | N.S                  | 3.66 ± 0.44    | 2.71 ± 0.45   | N.S                  |
| 21:4n-6     | 0.15 ± 0.05     | 0.56 ± 0.11   | N.S                  | 0.91 ± 0.23    | 0.96 ± 0.21   | N.S                  |
| 22:4n-6     | 0.40 ± 0.11     | 2.38 ± 0.12   | <b>0.001</b>         | 1.55 ± 0.12    | 1.35 ± 0.12   | N.S                  |
| 22:5n-6     | 2.61 ± 0.42     | 0.76 ± 0.15   | <i>0.064</i>         | 2.57 ± 0.21    | 3.02 ± 0.23   | N.S                  |
| 22:5n-3     | 6.48 ± 0.56     | 5.83 ± 0.45   | N.S                  | 4.01 ± 0.45    | 3.64 ± 0.45   | N.S                  |
| 22:6n-3     | 21.83 ± 0.45    | 17.21 ± 0.65  | N.S                  | 27.07 ± 0.61   | 27.74 ± 0.55  | N.S                  |
| 24:5n-3     | 0.13 ± 0.05     | 0.22 ± 0.09   | N.S                  | 2.40 ± 0.29    | 2.43 ± 0.45   | N.S                  |
| 24:6n-3     | 0.10 ± 0.02     | 0.17 ± 0.11   | N.S                  | 0.87 ± 0.24    | 0.60 ± 0.12   | N.S                  |
| Σ SAT       | 21.58 ± 0.42    | 24.59 ± 0.85  | N.S                  | 24.50 ± 0.24   | 23.99 ± 0.37  | N.S                  |
| Σ MUFA      | 29.27 ± 1.13    | 30.73 ± 0.83  | N.S                  | 11.83 ± 0.56   | 12.51 ± 0.56  | N.S                  |
| Σ PUFA      | 49.15 ± 1.05    | 44.68 ± 0.39  | N.S                  | 63.66 ± 0.57   | 63.50 ± 0.64  | N.S                  |
| Σ HUFA      | 40.19 ± 1.35    | 35.52 ± 1.09  | N.S                  | 60.22 ± 0.65   | 59.96 ± 0.62  | N.S                  |
| (22:6/20:5) | 11.92 ± 1.41    | 8.16 ± 1.11   | N.S                  | 9.02 ± 0.85    | 12.43 ± 1.11  | N.S                  |
| Sat Index   | 269.35 ± 2.45   | 240.31 ± 2.51 | N.S                  | 332.43 ± 1.25  | 333.09 ± 1.84 | N.S                  |

Ver tabla V para abreviaciones.

## **8.2. Segundo estudio: desarrollo embrionario.**

### **8.2.1. Diferencias entre silvestres y cultivados.**

Antes de describir los resultados es importante recordar que solamente en el caso de los organismos cultivados se lograron obtener los últimos tres estadios larvarios (larva al final del periodo lecitotrófico, transición de rotíferos a *Artemia* y transición de *Artemia* a hojuelas), por lo que se realizó un ANOVA bifactorial para los primeros cuatro estadios (huevo fertilizado, huevo oculado, pre-eclosión y larva recién eclosionada) comparando los desoves de ambos orígenes (silvestres y cultivados). Para el resto de los tres estadios en organismos cultivados, se realizó un ANOVA unifactorial para comparar diferencias entre distintos estadios.

Las concentraciones (mg/g) de ácidos grasos en cada estadio muestreado para organismos silvestres y de cultivo se indican en la tabla XV para la fracción neutra y XVII para la polar, mientras que las proporciones (%) se muestran en las tablas XVI y XVIII para la fracción neutra y polar respectivamente.

Se realizaron correlaciones entre los ácidos grasos considerados como esenciales (ARA, EPA y DHA) y uno de sus precursores para los desoves silvestres y cultivados con la finalidad de establecer si existe o no una síntesis de estos ácidos a partir de sus precursores. Solo se muestran las figuras cuando los resultados fueron significativos (Figuras 10 a 13).

Las proporciones de las clases de lípidos en cada estadio para organismos silvestres y domesticados se muestran en las figuras 4 a 9.

### 8.2.1. a. Ácidos grasos en la fracción neutra.

La concentración de la mayor parte de los ácidos grasos con excepción del 20:1n-9 y 20:4n-9, disminuyó en relación al desarrollo embrionario, en particular después de la eclosión en el caso de la mayoría de los ácidos grasos a excepción de los PUFA para los cuales la disminución fue gradual (Tabla XV). Por otro lado, la concentración de 14:0, 16:0, 18:0, 16:1n-9, 16:1n-7, 18:1n-7, 20:4n-6, saturados totales y MUFA fue de manera global significativamente mayor en organismos silvestres, mientras que la de 18:2n-6 y 22:6n-3 fue mayor en organismos cultivados.

En el caso de algunos ácidos grasos se observaron interacciones significativas que indican que la variación a lo largo del desarrollo fue diferente para organismos silvestres y cultivados. Este es el caso de ambos isómeros del 16:1, del 18:1n-7 y 18:2n-6 que incrementan entre huevo fertilizado y oculado en caso de organismos silvestres mientras que disminuyen en los cultivados.

Al igual que las concentraciones, las proporciones de algunos ácidos grasos, principalmente saturados (16:0 y SAT totales) disminuyeron a lo largo el desarrollo, aunque esto no fue el caso del 18:0 y 24:0. La mayor parte de los monoinsaturados presentaron un patrón irregular (incremento en estadios intermedios y disminución en larva eclosionada) aunque en varios casos este patrón además dependió del origen tal como lo reflejan las interacciones significativas que se mencionan más adelante. Finalmente en caso de los PUFA, no hubo variación significativa para el 18:2n-6 y 20:5n-3, mientras que para el 20:4n-6, 22:6n-3 y PUFA totales se observó una mayor proporción en larvas eclosionadas, aunque aquí la variación también dependió del origen lo cual se vió reflejado en las interacciones significativas.



Por otro lado, se observó que las proporciones de 14:0, 16:0, 16:1n-9, 16:1n-7, 18:1n-7, 20:4n-6 y saturados totales fueron de manera global significativamente mayores en organismos silvestres, mientras que el 24:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 22:6n-3 y PUFA fueron mayores en organismos cultivados (Tabla XVI). Por otra parte es importante mencionar la interacción significativa que se presentó para el 18:0 el cual disminuye entre huevo recién fertilizado y larva recién eclosionada en el caso de organismos silvestres, mientras que para los cultivados se observó un aumento. Por otro lado también se presentó una interacción significativa para el 18:1n-9 y los MUFA debido a un patrón irregular en el cual se observa un ligero incremento en los primeros estadios seguido de una disminución abrupta en larvas eclosionadas de organismos silvestres mientras que en los cultivados hay un incremento más pronunciado en el estadio pre-eclosión y la disminución posterior a la eclosión es menos pronunciada. Con respecto al 20:4n-6 y los PUFA, la interacción significativa se obtiene por una disminución en los estadios de huevo oculto y pre-eclosión en caso de silvestres mientras que en caso de los cultivados las proporciones en esos estadios son mayores (20:4n-6) o similares (PUFA) a las obtenidas en huevo recién fertilizado. Adicionalmente en el caso de los PUFA se obtuvo un incremento más pronunciado en larvas eclosionadas de desoves provenientes de organismos silvestres.

#### **8.2.1. b. Ácidos grasos en la fracción polar.**

Se observaron diferencias significativas entre los estadios para las concentraciones de 20:1n-9, que disminuye abruptamente después de la eclosión, así como para el 20:4n-6, PUFA y el total de ácidos grasos; y tendencias para el 18:0 y el 22:6n-3 quienes aumentan en larva recién eclosionada. Las concentraciones de ácidos grasos en esta fracción fueron significativamente mayores en organismos silvestres para el 14:0, 16:1n-9, 20:1n-9 y el

20:4n-6, mientras que el 20:5n-3 solo tendió a ser mayor en silvestres, sin presentarse diferencias significativas entre orígenes. El resto de las concentraciones no presentaron diferencias significativas entre ambos orígenes.

Respecto a las proporciones, se presentaron diferencias significativas en relación al estadio para el 14:0, 16:0, 18:1n-9, 20:1n-9, 22:6n-3, SAT, MUFA y PUFA, siendo mayores en los primeros estadios y cuyos valores en general fueron disminuyendo al final del desarrollo. Por otra parte ácidos grasos como el 14:0, 24:0, 16:1n-9, 20:1n-9, 20:4n-6 fueron significativamente mayores en organismos silvestres, mientras que el 18:0, 18:2n-6 y 22:6n-3 fueron mayores en organismos cultivados. En el caso del 20:1n-9, se obtuvo una interacción significativa con una disminución mas pronunciada en el estadio de larvas eclosionadas para el caso de organismos silvestres comparado con los cultivados.

**Tabla XV.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra durante el desarrollo embrionario del pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

El efecto de las variables independientes y de la interacción del ANOVA bifactorial se muestran en las tres últimas columnas (E= Estadio embrionario-larvario, con cuatro niveles y O= Origen del desove, con dos niveles). Las letras diferentes entre sí en cada fila indican diferencias significativas de comparación entre medias por Tukey que se aplicó cuando la interacción fue significativa.

| Ácido graso | O | huevo fertilizado         | huevo oculado             | Pre-eclosión              | larva eclosionada        | E            | O            | E x O        |
|-------------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 14:0        | S | 0.16 ± 0.07               | 0.06 ± 0.004              | 0.06 ± 0.01               | 0.02 ± 0.01              | <b>0.050</b> | <b>0.015</b> | 0.089        |
|             | C | 0.03 ± 0.01               | 0.03 ± 0.002              | 0.03 ± 0.01               | 0.02 ± 0.01              |              |              |              |
| 16:0        | S | 5.20 ± 1.76               | 4.30 ± 0.23               | 3.72 ± 0.39               | 1.02 ± 0.23              | <b>0.000</b> | <b>0.016</b> | N.S.         |
|             | C | 3.57 ± 0.19               | 2.33 ± 0.30               | 2.29 ± 0.26               | 1.26 ± 0.09              |              |              |              |
| 18:0        | S | 2.21 ± 0.83               | 1.53 ± 0.09               | 1.39 ± 0.09               | 0.56 ± 0.12              | <b>0.014</b> | <b>0.029</b> | N.S.         |
|             | C | 1.18 ± 0.07               | 0.93 ± 0.08               | 0.93 ± 0.04               | 0.70 ± 0.04              |              |              |              |
| 24:0        | S | 0.45 ± 0.16               | 0.30 ± 0.03               | 0.28 ± 0.05               | 0.19 ± 0.04              | <b>0.014</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 0.43 ± 0.03               | 0.28 ± 0.05               | 0.27 ± 0.02               | 0.23 ± 0.01              |              |              |              |
| 16:1n-9     | S | 0.36 ± 0.08 <sup>ab</sup> | 0.46 ± 0.04 <sup>a</sup>  | 0.41 ± 0.06 <sup>ab</sup> | 0.11 ± 0.02 <sup>b</sup> | <b>0.000</b> | <b>0.000</b> | <b>0.003</b> |
|             | C | 0.24 ± 0.01 <sup>ab</sup> | 0.15 ± 0.03 <sup>b</sup>  | 0.16 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 0.10 ± 0.01 <sup>b</sup> |              |              |              |
| 16:1n-7     | S | 0.73 ± 0.15 <sup>ab</sup> | 1.15 ± 0.12 <sup>a</sup>  | 1.00 ± 0.17 <sup>ab</sup> | 0.25 ± 0.07 <sup>b</sup> | <b>0.000</b> | <b>0.001</b> | <b>0.003</b> |
|             | C | 0.77 ± 0.04 <sup>ab</sup> | 0.50 ± 0.11 <sup>b</sup>  | 0.51 ± 0.04 <sup>b</sup>  | 0.26 ± 0.03 <sup>b</sup> |              |              |              |
| 18:1n-9     | S | 2.25 ± 0.59               | 2.10 ± 0.09               | 1.88 ± 0.13               | 0.56 ± 0.13              | <b>0.010</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 2.15 ± 0.13               | 1.53 ± 0.26               | 1.69 ± 0.15               | 0.99 ± 0.07              |              |              |              |
| 18:1n-7     | S | 1.20 ± 0.25 <sup>a</sup>  | 1.33 ± 0.10 <sup>a</sup>  | 1.14 ± 0.11 <sup>a</sup>  | 0.33 ± 0.08 <sup>b</sup> | <b>0.016</b> | <b>0.000</b> | <b>0.007</b> |
|             | C | 0.68 ± 0.04 <sup>ab</sup> | 0.47 ± 0.08 <sup>b</sup>  | 0.49 ± 0.03 <sup>b</sup>  | 0.29 ± 0.02 <sup>b</sup> |              |              |              |
| 20:1n-9     | S | 0.10 ± 0.06               | 0.22 ± 0.17               | 0.22 ± 0.18               | 0.02 ± 0.01              | N.S.         | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 0.05 ± 0.01               | 0.04 ± 0.02               | 0.02 ± 0.01               | 0.01 ± 0.01              |              |              |              |
| 18:2n-6     | S | 0.29 ± 0.05 <sup>b</sup>  | 0.44 ± 0.03 <sup>ab</sup> | 0.38 ± 0.06 <sup>ab</sup> | 0.11 ± 0.03 <sup>c</sup> | <b>0.000</b> | <b>0.002</b> | <b>0.001</b> |
|             | C | 0.61 ± 0.04 <sup>a</sup>  | 0.40 ± 0.09 <sup>ab</sup> | 0.39 ± 0.02 <sup>ab</sup> | 0.25 ± 0.02 <sup>b</sup> |              |              |              |
| 20:4n-6     | S | 1.91 ± 0.84               | 0.98 ± 0.08               | 0.89 ± 0.09               | 0.63 ± 0.09              | N.S.         | <b>0.001</b> | N.S.         |
|             | C | 0.37 ± 0.03               | 0.33 ± 0.03               | 0.31 ± 0.01               | 0.27 ± 0.02              |              |              |              |
| 20:5n-3     | S | 0.83 ± 0.25               | 0.63 ± 0.13               | 0.52 ± 0.14               | 0.28 ± 0.05              | <b>0.009</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 0.60 ± 0.03               | 0.42 ± 0.07               | 0.46 ± 0.07               | 0.28 ± 0.02              |              |              |              |
| 22:6n-3     | S | 4.58 ± 1.48               | 3.02 ± 0.12               | 2.46 ± 0.17               | 1.89 ± 0.34              | <b>0.000</b> | <b>0.050</b> | N.S.         |
|             | C | 5.64 ± 0.40               | 3.69 ± 0.51               | 3.23 ± 0.30               | 2.79 ± 0.15              |              |              |              |
| Σ SAT       | S | 8.01 ± 2.81               | 6.20 ± 0.27               | 5.45 ± 0.49               | 1.79 ± 0.34              | <b>0.001</b> | <b>0.025</b> | N.S.         |
|             | C | 5.21 ± 0.28               | 3.56 ± 0.44               | 3.53 ± 0.31               | 2.22 ± 0.14              |              |              |              |
| Σ MUFA      | S | 3.58 ± 0.89               | 3.68 ± 0.11               | 3.28 ± 0.29               | 0.96 ± 0.20              | <b>0.000</b> | <b>0.014</b> | 0.091        |
|             | C | 2.98 ± 0.16               | 2.13 ± 0.37               | 2.28 ± 0.19               | 1.34 ± 0.10              |              |              |              |
| Σ PUFA      | S | 7.82 ± 2.60               | 5.43 ± 0.28               | 4.58 ± 0.43               | 3.38 ± 0.46              | <b>0.003</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 7.31 ± 0.48               | 4.96 ± 0.70               | 4.44 ± 0.40               | 3.74 ± 0.41              |              |              |              |
| Total       | S | 20.5 ± 6.33               | 16.9 ± 0.47               | 14.7 ± 1.22               | 6.49 ± 0.98              | <b>0.001</b> | 0.085        | N.S.         |
|             | C | 16.5 ± 0.95               | 11.3 ± 1.64               | 10.9 ± 0.93               | 7.65 ± 0.48              |              |              |              |

Σ SAT= ácidos grasos saturados totales; Σ MUFA= ácidos grasos monoinsaturados totales; Σ PUFA= ácidos grasos polinsaturados totales; Σ HUFA= ácidos grasos altamente insaturados totales. Los ácidos grasos 24:1n-9, 22:4n-6, 22:5n-3, 18:2n-6 y 18:3n-3 no fueron detectados en estas muestras.

**Tabla XVI.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra durante el desarrollo embrionario del pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla XV para análisis estadístico.

| Ácido<br>graso | O | huevo<br>fertilizado      | huevo<br>oculado          | Pre-eclosión              | larva<br>eclosionada      | E     | O     | E x O |
|----------------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|
| 14:0           | S | 0.71 ± 0.22               | 0.35 ± 0.03               | 0.42 ± 0.06               | 0.34 ± 0.09               | N.S.  | 0.010 | 0.053 |
|                | C | 0.20 ± 0.04               | 0.25 ± 0.04               | 0.32 ± 0.05               | 0.33 ± 0.05               |       |       |       |
| 16:0           | S | 24.7 ± 0.58               | 25.5 ± 1.31               | 25.3 ± 1.51               | 15.5 ± 3.16               | 0.000 | 0.009 | N.S.  |
|                | C | 21.7 ± 0.33               | 21.0 ± 0.77               | 20.9 ± 0.68               | 16.5 ± 0.23               |       |       |       |
| 18:0           | S | 10.2 ± 0.59 <sup>a</sup>  | 9.07 ± 0.49 <sup>ab</sup> | 9.58 ± 0.59 <sup>ab</sup> | 8.33 ± 1.03 <sup>ab</sup> | N.S.  | 0.073 | 0.042 |
|                | C | 7.15 ± 0.17 <sup>b</sup>  | 8.82 ± 1.08 <sup>ab</sup> | 8.61 ± 0.48 <sup>ab</sup> | 9.14 ± 0.12 <sup>ab</sup> |       |       |       |
| 24:0           | S | 2.09 ± 0.09               | 1.80 ± 0.19               | 1.85 ± 0.21               | 3.00 ± 0.56               | 0.002 | 0.021 | N.S.  |
|                | C | 2.57 ± 0.04               | 2.33 ± 0.24               | 2.51 ± 0.06               | 2.99 ± 0.07               |       |       |       |
| 16:1n-9        | S | 1.93 ± 0.29               | 2.71 ± 0.25               | 2.74 ± 0.24               | 1.74 ± 0.39               | 0.039 | 0.000 | 0.058 |
|                | C | 1.44 ± 0.04               | 1.24 ± 0.12               | 1.49 ± 0.10               | 1.28 ± 0.08               |       |       |       |
| 16:1n-7        | S | 4.41 ± 1.21               | 6.78 ± 0.58               | 6.67 ± 0.68               | 4.01 ± 1.33               | 0.052 | 0.023 | N.S.  |
|                | C | 4.66 ± 0.06               | 4.07 ± 0.69               | 4.68 ± 0.09               | 3.38 ± 0.14               |       |       |       |
| 18:1n-9        | S | 11.5 ± 0.76 <sup>ab</sup> | 12.5 ± 0.47 <sup>ab</sup> | 12.9 ± 0.48 <sup>ab</sup> | 8.31 ± 1.14 <sup>b</sup>  | 0.000 | 0.000 | 0.013 |
|                | C | 13.0 ± 0.14 <sup>ab</sup> | 13.2 ± 0.57 <sup>ab</sup> | 15.5 ± 0.13 <sup>a</sup>  | 12.9 ± 0.17 <sup>ab</sup> |       |       |       |
| 18:1n-7        | S | 6.52 ± 0.75               | 7.87 ± 0.60               | 7.82 ± 0.60               | 5.27 ± 1.17               | 0.042 | 0.000 | N.S.  |
|                | C | 4.15 ± 0.05               | 4.00 ± 0.25               | 4.49 ± 0.09               | 3.83 ± 0.07               |       |       |       |
| 20:1n-9        | S | 0.35 ± 0.11               | 1.23 ± 0.95               | 1.27 ± 0.97               | 0.35 ± 0.13               | N.S.  | N.S.  | N.S.  |
|                | C | 0.33 ± 0.08               | 0.28 ± 0.12               | 0.16 ± 0.10               | 0.15 ± 0.05               |       |       |       |
| 18:2n-6        | S | 1.65 ± 0.35               | 2.61 ± 0.12               | 2.56 ± 0.19               | 1.76 ± 0.48               | N.S.  | 0.000 | N.S.  |
|                | C | 3.71 ± 0.01               | 3.27 ± 0.48               | 3.61 ± 0.19               | 3.34 ± 0.12               |       |       |       |
| 20:4n-6        | S | 8.37 ± 1.19 <sup>ab</sup> | 5.79 ± 0.43 <sup>b</sup>  | 6.12 ± 0.51 <sup>b</sup>  | 10.1 ± 1.38 <sup>a</sup>  | 0.008 | 0.000 | 0.017 |
|                | C | 2.24 ± 0.14 <sup>c</sup>  | 3.20 ± 0.44 <sup>bc</sup> | 2.88 ± 0.18 <sup>c</sup>  | 3.54 ± 0.10 <sup>bc</sup> |       |       |       |
| 20:5n-3        | S | 4.09 ± 0.16               | 3.71 ± 0.70               | 3.45 ± 0.71               | 4.45 ± 0.90               | N.S.  | N.S.  | N.S.  |
|                | C | 3.62 ± 0.09               | 3.64 ± 0.21               | 4.11 ± 0.95               | 3.62 ± 3.52               |       |       |       |
| 22:6n-3        | S | 22.1 ± 1.29               | 17.9 ± 0.73               | 16.9 ± 0.69               | 28.9 ± 0.54               | 0.000 | 0.000 | N.S.  |
|                | C | 34.1 ± 0.48               | 32.9 ± 0.50               | 29.5 ± 1.51               | 36.6 ± 0.48               |       |       |       |
| Σ SAT.         | S | 37.7 ± 1.34               | 36.7 ± 1.46               | 37.1 ± 1.71               | 27.1 ± 3.45               | 0.000 | 0.008 | N.S.  |
|                | C | 31.6 ± 0.45               | 32.4 ± 1.64               | 32.3 ± 0.76               | 28.9 ± 0.23               |       |       |       |
| Σ MUFA         | S | 22.8 ± 2.74 <sup>ab</sup> | 28.5 ± 0.66 <sup>ab</sup> | 28.9 ± 0.73 <sup>a</sup>  | 18.6 ± 2.22 <sup>b</sup>  | 0.012 | 0.076 | 0.030 |
|                | C | 22.8 ± 0.18 <sup>ab</sup> | 22.3 ± 1.62 <sup>ab</sup> | 25.6 ± 0.22 <sup>ab</sup> | 20.8 ± 0.37 <sup>b</sup>  |       |       |       |
| Σ PUFA         | S | 37.5 ± 2.08 <sup>b</sup>  | 32.1 ± 1.31 <sup>bc</sup> | 31.2 ± 1.63 <sup>c</sup>  | 52.6 ± 2.11 <sup>a</sup>  | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
|                | C | 44.2 ± 0.54 <sup>ab</sup> | 44.0 ± 0.52 <sup>ab</sup> | 40.7 ± 0.92 <sup>bc</sup> | 49.0 ± 0.38 <sup>ab</sup> |       |       |       |

Ver tabla XV para abreviaciones.

**Tabla XVII.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción polar durante el desarrollo embrionario del pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla XV para análisis estadístico.

| Ácido<br>graso | O | huevo<br>fertilizado | huevo<br>oculado | Pre-eclosión | larva<br>eclosionada | E            | O            | E x O |
|----------------|---|----------------------|------------------|--------------|----------------------|--------------|--------------|-------|
| 14:0           | S | 0.05 ± 0.015         | 0.07 ± 0.002     | 0.04 ± 0.003 | 0.06 ± 0.021         | N.S.         | <b>0.001</b> | N.S.  |
|                | C | 0.02 ± 0.002         | 0.02 ± 0.005     | 0.02 ± 0.002 | 0.04 ± 0.015         |              |              |       |
| 16:0           | S | 3.70 ± 1.09          | 2.30 ± 0.05      | 1.99 ± 0.13  | 3.29 ± 0.57          | N.S.         | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 1.85 ± 0.13          | 2.01 ± 0.66      | 1.93 ± 0.10  | 3.44 ± 1.02          |              |              |       |
| 18:0           | S | 1.48 ± 0.38          | 0.92 ± 0.06      | 0.88 ± 0.04  | 1.61 ± 0.33          | 0.056        | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 1.00 ± 0.07          | 1.05 ± 0.18      | 0.89 ± 0.04  | 1.64 ± 0.48          |              |              |       |
| 24:0           | S | 0.32 ± 0.09          | 0.18 ± 0.03      | 0.13 ± 0.02  | 0.29 ± 0.04          | N.S.         | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 0.13 ± 0.01          | 0.23 ± 0.13      | 0.10 ± 0.01  | 0.21 ± 0.06          |              |              |       |
| 16:1n-9        | S | 0.29 ± 0.12          | 0.11 ± 0.01      | 0.09 ± 0.01  | 0.25 ± 0.08          | N.S.         | <b>0.033</b> | N.S.  |
|                | C | 0.06 ± 0.01          | 0.11 ± 0.06      | 0.06 ± 0.01  | 0.10 ± 0.04          |              |              |       |
| 16:1n-7        | S | 0.74 ± 0.39          | 0.14 ± 0.04      | 0.12 ± 0.04  | 0.64 ± 0.31          | N.S.         | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 0.11 ± 0.01          | 0.32 ± 0.23      | 0.10 ± 0.01  | 0.16 ± 0.06          |              |              |       |
| 18:1n-9        | S | 1.15 ± 0.60          | 0.82 ± 0.05      | 0.54 ± 0.18  | 1.51 ± 0.46          | N.S.         | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 0.90 ± 0.06          | 1.31 ± 0.52      | 0.87 ± 0.05  | 1.45 ± 0.45          |              |              |       |
| 18:1n-7        | S | 0.62 ± 0.37          | 0.36 ± 0.03      | 0.24 ± 0.08  | 0.82 ± 0.21          | N.S.         | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 0.28 ± 0.02          | 0.39 ± 0.16      | 0.22 ± 0.01  | 0.33 ± 0.10          |              |              |       |
| 20:1n-9        | S | 0.71 ± 0.13          | 0.50 ± 0.04      | 0.53 ± 0.04  | 0.17 ± 0.05          | <b>0.000</b> | <b>0.000</b> | N.S.  |
|                | C | 0.25 ± 0.01          | 0.33 ± 0.06      | 0.30 ± 0.04  | 0.16 ± 0.05          |              |              |       |
| 18:2n-6        | S | 0.28 ± 0.13          | 0.09 ± 0.02      | 0.09 ± 0.03  | 0.25 ± 0.11          | N.S.         | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 0.12 ± 0.01          | 0.28 ± 0.18      | 0.10 ± 0.01  | 0.17 ± 0.05          |              |              |       |
| 20:4n-6        | S | 1.25 ± 0.21          | 0.97 ± 0.04      | 0.81 ± 0.06  | 1.49 ± 0.33          | <b>0.042</b> | <b>0.000</b> | N.S.  |
|                | C | 0.44 ± 0.05          | 0.39 ± 0.07      | 0.33 ± 0.02  | 0.64 ± 0.19          |              |              |       |
| 20:5n-3        | S | 0.66 ± 0.20          | 0.41 ± 0.13      | 0.31 ± 0.12  | 0.32 ± 0.10          | N.S.         | 0.079        | N.S.  |
|                | C | 0.26 ± 0.03          | 0.37 ± 0.17      | 0.21 ± 0.02  | 0.43 ± 0.10          |              |              |       |
| 22:6n-3        | S | 4.15 ± 0.99          | 2.42 ± 0.17      | 2.29 ± 0.06  | 4.14 ± 0.88          | 0.056        | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 2.85 ± 0.24          | 3.74 ± 1.46      | 2.57 ± 0.16  | 6.63 ± 1.98          |              |              |       |
| Σ SAT.         | S | 5.56 ± 1.57          | 3.19 ± 0.08      | 3.04 ± 0.17  | 5.39 ± 0.96          | N.S.         | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 3.00 ± 0.21          | 3.61 ± 0.97      | 2.94 ± 0.14  | 5.37 ± 1.60          |              |              |       |
| Σ MUFA         | S | 3.85 ± 1.46          | 2.03 ± 0.09      | 1.62 ± 0.19  | 4.92 ± 2.04          | N.S.         | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 1.73 ± 0.10          | 2.72 ± 1.15      | 1.68 ± 0.08  | 2.49 ± 0.76          |              |              |       |
| Σ PUFA         | S | 6.57 ± 3.21          | 4.15 ± 0.72      | 3.63 ± 0.69  | 6.95 ± 0.49          | <b>0.021</b> | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 3.78 ± 0.56          | 4.94 ± 1.10      | 3.15 ± 0.50  | 7.72 ± 0.24          |              |              |       |
| Total          | S | 16.0 ± 4.48          | 9.36 ± 0.20      | 8.38 ± 0.35  | 18.2 ± 3.67          | <b>0.066</b> | N.S.         | N.S.  |
|                | C | 8.52 ± 0.64          | 11.3 ± 4.05      | 7.92 ± 0.39  | 15.8 ± 4.71          |              |              |       |

Ver tabla XV para abreviaciones.

**Tabla XVIII.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción polar durante el desarrollo embrionario del pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla XV para análisis estadístico.

| Ácido graso | O | Huevo fertilizado         | Huevo oculado             | Pre-eclosión              | Larva eclosionada         | E            | O            | E x O        |
|-------------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 14:0        | S | 0.62 ± 0.18               | 0.35 ± 0.03               | 0.31 ± 0.47               | 0.29 ± 0.09               | <b>0.049</b> | <b>0.011</b> | N.S.         |
|             | C | 0.28 ± 0.04               | 0.24 ± 0.01               | 0.26 ± 0.04               | 0.37 ± 0.04               |              |              |              |
| 16:0        | S | 24.2 ± 0.47               | 23.3 ± 1.15               | 22.9 ± 0.42               | 20.7 ± 1.10               | <b>0.022</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 24.8 ± 0.16               | 22.3 ± 0.13               | 22.4 ± 1.05               | 22.8 ± 1.04               |              |              |              |
| 18:0        | S | 11.2 ± 0.37               | 9.73 ± 0.30               | 10.7 ± 0.47               | 9.57 ± 0.34               | N.S.         | <b>0.008</b> | N.S.         |
|             | C | 11.3 ± 0.46               | 12.1 ± 0.18               | 11.3 ± 1.22               | 10.9 ± 0.25               |              |              |              |
| 24:0        | S | 1.53 ± 0.13               | 2.06 ± 0.05               | 1.85 ± 0.23               | 1.85 ± 0.19               | N.S.         | <b>0.022</b> | N.S.         |
|             | C | 1.29 ± 0.12               | 1.58 ± 0.08               | 1.72 ± 0.29               | 1.41 ± 0.04               |              |              |              |
| 16:1n-9     | S | 1.00 ± 0.07               | 1.58 ± 0.34               | 0.92 ± 0.23               | 1.11 ± 0.19               | N.S.         | <b>0.005</b> | N.S.         |
|             | C | 0.70 ± 0.02               | 0.75 ± 0.02               | 0.87 ± 0.12               | 0.77 ± 0.11               |              |              |              |
| 16:1n-7     | S | 1.12 ± 0.06               | 3.38 ± 1.35               | 1.41 ± 0.29               | 2.10 ± 0.87               | N.S.         | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 1.30 ± 0.02               | 1.30 ± 0.06               | 1.97 ± 0.67               | 1.27 ± 0.33               |              |              |              |
| 18:1n-9     | S | 9.55 ± 0.58               | 7.63 ± 2.02               | 9.20 ± 0.34               | 7.90 ± 1.32               | <b>0.025</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 11.1 ± 0.11               | 10.8 ± 0.20               | 11.5 ± 0.36               | 5.71 ± 2.31               |              |              |              |
| 18:1n-7     | S | 3.80 ± 0.28               | 3.75 ± 1.14               | 4.06 ± 0.24               | 4.34 ± 1.04               | N.S.         | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 2.77 ± 0.03               | 3.39 ± 0.04               | 3.36 ± 0.16               | 3.25 ± 1.66               |              |              |              |
| 20:1n-9     | S | 5.82 ± 0.42 <sup>a</sup>  | 5.16 ± 0.64 <sup>a</sup>  | 6.04 ± 0.41 <sup>a</sup>  | 0.97 ± 0.22 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> | <b>0.015</b> | <b>0.042</b> |
|             | C | 3.72 ± 0.76 <sup>ab</sup> | 3.18 ± 0.38 <sup>ab</sup> | 3.84 ± 0.95 <sup>ab</sup> | 2.20 ± 1.18 <sup>ab</sup> |              |              |              |
| 18:2n-6     | S | 0.88 ± 0.15               | 1.39 ± 0.39               | 0.93 ± 0.13               | 1.02 ± 0.30               | N.S.         | <b>0.039</b> | N.S.         |
|             | C | 1.24 ± 0.06               | 1.43 ± 0.03               | 1.93 ± 0.48               | 1.26 ± 0.18               |              |              |              |
| 20:4n-6     | S | 8.62 ± 1.10               | 9.09 ± 0.92               | 10.6 ± 0.32               | 7.58 ± 0.81               | N.S.         | <b>0.000</b> | 0.068        |
|             | C | 4.32 ± 0.19               | 5.34 ± 0.34               | 4.27 ± 0.49               | 5.77 ± 1.40               |              |              |              |
| 20:5n-3     | S | 2.57 ± 0.28               | 4.18 ± 0.24               | 4.00 ± 0.88               | 2.86 ± 0.52               | N.S.         | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 2.93 ± 0.26               | 3.11 ± 0.11               | 3.07 ± 0.26               | 3.04 ± 1.21               |              |              |              |
| 22:6n-3     | S | 29.0 ± 0.62               | 28.0 ± 1.53               | 26.1 ± 1.15               | 35.8 ± 3.11               | <b>0.000</b> | <b>0.000</b> | N.S.         |
|             | C | 33.9 ± 0.85               | 34.2 ± 0.38               | 33.0 ± 1.28               | 40.2 ± 2.96               |              |              |              |
| Σ SAT.      | S | 37.6 ± 0.68               | 35.5 ± 1.31               | 36.7 ± 0.89               | 32.5 ± 1.07               | <b>0.022</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 37.7 ± 0.25               | 36.2 ± 0.27               | 35.7 ± 1.96               | 35.4 ± 1.07               |              |              |              |
| Σ.MUFA      | S | 20.3 ± 0.67               | 20.3 ± 2.45               | 20.7 ± 0.69               | 15.7 ± 1.97               | <b>0.000</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 19.3 ± 0.61               | 19.1 ± 0.52               | 21.1 ± 1.16               | 12.9 ± 0.92               |              |              |              |
| Σ PUFA      | S | 41.1 ± 1.09               | 42.7 ± 2.08               | 41.7 ± 1.31               | 50.7 ± 1.35               | <b>0.000</b> | N.S.         | N.S.         |
|             | C | 42.4 ± 0.87               | 44.0 ± 0.64               | 42.4 ± 1.46               | 50.9 ± 0.47               |              |              |              |

Ver tabla XV para abreviaciones.

## 8.2.2. Desarrollo larvario de organismos cultivados

### 8.2.2. a. Ácidos grasos en la fracción neutra

La concentración de los ácidos grasos 18:0, 20:1n-9, 18:3n-3, 22:5n-3, saturados y MUFA totales aumentaron significativamente al final del desarrollo larvario, mientras que las concentraciones de 18:1n-7, 18:2n-6, 20:4n-6, 22:6n-3, PUFA, HUFA y la relación 22:6n-3/20:5n-3 disminuyeron significativamente en relación al desarrollo larvario (Tabla XIX).

En relación a las proporciones en esta fracción (Tabla XX), se observan aumentos significativos solamente en el caso de 18:0, 20:1n-9, 18:3n-3, saturados y MUFA totales, mientras que el 24:0, 16:1n-7, 18:1n-9, 18:1n-7, 18:2n-6, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:6n-3, PUFA, HUFA y el índice de insaturación disminuyeron significativamente durante el desarrollo larvario.

### 8.2.2. b. Ácidos grasos en la fracción polar

Únicamente las concentraciones del 20:1n-9 y 18:3n-3 aumentaron significativamente durante el desarrollo larvario. En contraste, el 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 20:4n-6, 22:6n-3, saturados, MUFA, PUFA, HUFA, la relación n-3/n-6 y 22:6n-3/20:5n-3, así como el total de ácidos grasos disminuyeron significativamente hacia el último estadio del desarrollo larvario (Tabla XXI).

Respecto a las proporciones se observa un aumento del 14:0, 18:0, 24:0, 16:1n-7, 20:1n-9, 18:3n-3, 20:5n-3 y 22:4n-6, mientras que el 20:4n-6, 22:6n-3, PUFA, HUFA y el índice de insaturación disminuyen significativamente (Tabla XXII).

**Tabla XIX.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción neutra durante el desarrollo larvario de organismos cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

El efecto de la variable independiente del ANOVA unifactorial se muestra en la última columna (E= Estadio embrionario-larvario, con tres niveles).

| Ácido graso | Final de lecitotrofia     | Rotíferos a <i>Artemia</i> | <i>Artemia</i> a hojuelas | E            |
|-------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------|
| 14:0        | 0.03 ± 0.01               | 0.02 ± 0.01                | 0.03 ± 0.01               | N.S.         |
| 16:0        | 1.59 ± 0.12               | 1.04 ± 0.02                | 1.52 ± 0.12               | N.S.         |
| 18:0        | 0.89 ± 0.12 <sup>a</sup>  | 0.59 ± 0.12 <sup>a</sup>   | 3.11 ± 0.11 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| 24:0        | 0.28 ± 0.11               | 0.18 ± 0.09                | 0.18 ± 0.09               | N.S.         |
| 16:1n-9     | 0.12 ± 0.05               | 0.08 ± 0.02                | N.D                       |              |
| 16:1n-7     | 0.34 ± 0.11               | 0.21 ± 0.04                | 0.24 ± 0.09               | N.S.         |
| 18:1n-9     | 1.30 ± 0.05               | 0.84 ± 0.12                | 0.97 ± 0.11               | N.S.         |
| 18:1n-7     | 0.38 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0.19 ± 0.02 <sup>ab</sup>  | 0.07 ± 0.02 <sup>b</sup>  | <b>0.003</b> |
| 20:1n-9     | 0.02 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.01 ± 0.00 <sup>a</sup>   | 1.23 ± 0.08 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| 24:1n-9     | 0.05 ± 0.01               | 0.03 ± 0.01                | 0.04 ± 0.01               | N.S.         |
| 18:2n-6     | 0.33 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 0.20 ± 0.05 <sup>ab</sup>  | 0.13 ± 0.09 <sup>b</sup>  | <b>0.002</b> |
| 18:3n-3     | 0.02 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.01 ± 0.00 <sup>a</sup>   | 0.81 ± 0.05 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| 20:4n-6     | 0.34 ± 0.12 <sup>a</sup>  | 0.23 ± 0.03 <sup>ab</sup>  | 0.18 ± 0.05 <sup>b</sup>  | <b>0.039</b> |
| 20:5n-3     | 0.35 ± 0.09               | 0.23 ± 0.09                | 0.23 ± 0.11               | N.S.         |
| 22:4n-6     | 0.10 ± 0.04               | 0.06 ± 0.01                | 0.11 ± 0.04               | 0.054        |
| 22:5n-3     | 0.07 ± 0.02 <sup>ab</sup> | 0.05 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 0.09 ± 0.02 <sup>b</sup>  | <b>0.031</b> |
| 22:6n-3     | 3.62 ± 0.16 <sup>a</sup>  | 2.24 ± 0.11 <sup>a</sup>   | 0.57 ± 0.23 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| Σ SAT.      | 2.79 ± 0.18 <sup>ab</sup> | 1.84 ± 0.23 <sup>b</sup>   | 4.83 ± 0.12 <sup>a</sup>  | <b>0.001</b> |
| Σ MUFA      | 1.75 ± 0.12 <sup>ab</sup> | 1.07 ± 0.11 <sup>a</sup>   | 2.30 ± 0.16 <sup>b</sup>  | <b>0.006</b> |
| Σ PUFA      | 4.82 ± 0.24 <sup>a</sup>  | 3.01 ± 0.15 <sup>ab</sup>  | 2.68 ± 0.17 <sup>b</sup>  | <b>0.030</b> |
| Σ HUFA      | 4.47 ± 0.23 <sup>a</sup>  | 2.80 ± 0.41 <sup>ab</sup>  | 1.74 ± 0.12 <sup>b</sup>  | <b>0.006</b> |
| n-3/n-6     | 5.24 ± 0.15               | 5.19 ± 0.56                | 4.73 ± 0.24               | N.S.         |
| 22:6/20:5   | 10.59 ± 0.58 <sup>a</sup> | 9.71 ± 0.32 <sup>a</sup>   | 2.55 ± 0.35 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| Total       | 9.82 ± 0.69               | 6.22 ± 0.21                | 10.06 ± 0.32              | 0.071        |

Σ SAT = ácidos grasos saturados totales; Σ MUFA = ácidos grasos monoinsaturados totales; Σ PUFA = ácidos grasos polinsaturados totales; Σ HUFA = ácidos grasos altamente insaturados totales; N.D= no detectado.



**Tabla XX.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción neutra durante el desarrollo larvario de organismos cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla XIX para análisis estadístico.

| Ácido graso      | Final de lecitotrofia      | Rotíferos a <i>Artemia</i> | <i>Artemia</i> a hojuelas  | E            |
|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------|
| <b>14:0</b>      | 0.37 ± 0.11                | 0.39 ± 0.12                | 0.31 ± 0.11                | N.S          |
| <b>16:0</b>      | 16.01 ± 0.12               | 16.79 ± 0.15               | 15.23 ± 0.12               | N.S          |
| <b>18:0</b>      | 9.08 ± 0.10 <sup>a</sup>   | 9.54 ± 0.15 <sup>a</sup>   | 30.77 ± 0.15 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>24:0</b>      | 2.79 ± 0.13 <sup>a</sup>   | 2.90 ± 0.13 <sup>a</sup>   | 1.75 ± 0.15 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>16:1n-9</b>   | 1.25 ± 0.09                | 1.33 ± 0.16                | N.D.                       |              |
| <b>16:1n-7</b>   | 3.40 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 3.35 ± 0.45 <sup>a</sup>   | 2.42 ± 0.09 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>18:1n-9</b>   | 13.25 ± 0.04 <sup>a</sup>  | 13.44 ± 0.54 <sup>a</sup>  | 9.66 ± 0.11 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>18:1n-7</b>   | 3.84 ± 0.06 <sup>a</sup>   | 3.25 ± 0.16 <sup>a</sup>   | 0.67 ± 0.16 <sup>b</sup>   | <b>0.001</b> |
| <b>20:1n-9</b>   | 0.26 ± 0.02 <sup>a</sup>   | 0.26 ± 0.06 <sup>a</sup>   | 12.19 ± 0.45 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>24:1n-9</b>   | 0.50 ± 0.05                | 0.57 ± 0.09                | 0.36 ± 0.12                | N.S          |
| <b>18:2n-6</b>   | 3.41 ± 0.11 <sup>a</sup>   | 3.26 ± 0.45 <sup>a</sup>   | 1.29 ± 0.09 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>18:3n-3</b>   | 0.20 ± 0.02 <sup>a</sup>   | 0.23 ± 0.05 <sup>a</sup>   | 7.89 ± 0.11 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>20:4n-6</b>   | 3.46 ± 0.06 <sup>a</sup>   | 3.60 ± 0.12 <sup>a</sup>   | 1.90 ± 0.32 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>20:5n-3</b>   | 3.52 ± 0.13 <sup>a</sup>   | 3.73 ± 0.16 <sup>a</sup>   | 2.27 ± 0.17 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>22:4n-6</b>   | 1.03 ± 0.06                | 0.92 ± 0.31                | 1.07 ± 0.09                | N.S          |
| <b>22:5n-3</b>   | 0.69 ± 0.08                | 0.75 ± 0.12                | 0.87 ± 0.05                | N.S          |
| <b>22:6n-3</b>   | 36.96 ± 0.23 <sup>a</sup>  | 35.68 ± 0.35 <sup>a</sup>  | 5.70 ± 0.16 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>∑ SAT.</b>    | 28.24 ± 0.25 <sup>a</sup>  | 29.63 ± 0.65 <sup>a</sup>  | 48.06 ± 0.36 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>∑.MUFA</b>    | 21.24 ± 0.21 <sup>a</sup>  | 20.87 ± 0.89 <sup>a</sup>  | 25.30 ± 0.54 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>∑ PUFA</b>    | 49.27 ± 0.65 <sup>a</sup>  | 48.17 ± 0.85 <sup>a</sup>  | 26.65 ± 0.46 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>∑ HUFA</b>    | 45.66 ± 0.35 <sup>a</sup>  | 44.68 ± 0.45 <sup>a</sup>  | 17.47 ± 0.14 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>Sat Index</b> | 289.43 ± 8.23 <sup>a</sup> | 282.65 ± 5.23 <sup>a</sup> | 138.34 ± 1.26 <sup>b</sup> | <b>0.000</b> |

Ver tabla XIX para abreviaciones.

**Tabla XXI.- Concentración (mg/g) de ácidos grasos de la fracción polar durante el desarrollo larvario de organismos cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla XIX para análisis estadístico.

| Ácido graso      | Final de lecitotrofia     | Rotíferos a <i>Artemia</i> | <i>Artemia</i> a hojuelas | E            |
|------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------|
| <b>14:0</b>      | 0.05 ± 0.01               | 0.03 ± 0.01                | 0.04 ± 0.01               | 0.089        |
| <b>16:0</b>      | 3.19 ± 0.011 <sup>a</sup> | 1.92 ± 0.11 <sup>b</sup>   | 1.47 ± 0.12 <sup>b</sup>  | <b>0.009</b> |
| <b>18:0</b>      | 1.62 ± 0.12               | 0.93 ± 0.13                | 1.22 ± 0.11               | 0.097        |
| <b>24:0</b>      | 0.18 ± 0.02               | 0.10 ± 0.02                | 0.17 ± 0.05               | N.S          |
| <b>16:1n-9</b>   | 0.10 ± 0.03               | 0.06 ± 0.01                | N.D.                      |              |
| <b>16:1n-7</b>   | 0.15 ± 0.02               | 0.08 ± 0.02                | 0.10 ± 0.01               | 0.077        |
| <b>18:1n-9</b>   | 1.43 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 0.69 ± 0.11 <sup>ab</sup>  | 0.49 ± 0.08 <sup>b</sup>  | <b>0.005</b> |
| <b>18:1n-7</b>   | 0.34 ± 0.02               | 0.31 ± 0.06                | 0.33 ± 0.05               | N.S          |
| <b>20:1n-9</b>   | 0.14 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.09 ± 0.02 <sup>a</sup>   | 0.38 ± 0.09 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>24:1n-9</b>   | 0.06 ± 0.01               | 0.04 ± 0.01                | 0.05 ± 0.01               | N.S          |
| <b>18:2n-6</b>   | 0.17 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 0.10 ± 0.02 <sup>a</sup>   | 0.05 ± 0.01 <sup>b</sup>  | <b>0.001</b> |
| <b>18:3n-3</b>   | 0.01 ± 0.00 <sup>a</sup>  | 0.01 ± 0.00 <sup>a</sup>   | 0.28 ± 0.05 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>20:4n-6</b>   | 0.61 ± 0.05 <sup>a</sup>  | 0.36 ± 0.06 <sup>ab</sup>  | 0.14 ± 0.06 <sup>b</sup>  | <b>0.002</b> |
| <b>20:5n-3</b>   | 0.25 ± 0.11               | 0.17 ± 0.04                | 0.34 ± 0.05               | N.S          |
| <b>22:6n-3</b>   | 6.33 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 3.60 ± 0.13 <sup>ab</sup>  | 1.49 ± 0.11 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>∑ SAT.</b>    | 5.08 ± 0.12 <sup>a</sup>  | 3.01 ± 0.16 <sup>ab</sup>  | 2.98 ± 0.09 <sup>b</sup>  | <b>0.036</b> |
| <b>∑ MUFA</b>    | 2.42 ± 0.11 <sup>a</sup>  | 1.41 ± 0.14 <sup>b</sup>   | 1.65 ± 0.23 <sup>b</sup>  | <b>0.025</b> |
| <b>∑ PUFA</b>    | 7.63 ± 0.17 <sup>a</sup>  | 4.37 ± 0.36 <sup>ab</sup>  | 3.07 ± 0.32 <sup>b</sup>  | <b>0.002</b> |
| <b>∑ HUFA</b>    | 7.37 ± 0.69 <sup>a</sup>  | 4.21 ± 0.45 <sup>ab</sup>  | 2.42 ± 0.27 <sup>b</sup>  | <b>0.001</b> |
| <b>n-3/n-6</b>   | 7.64 ± 0.36 <sup>a</sup>  | 7.62 ± 0.64 <sup>a</sup>   | 3.97 ± 0.65 <sup>b</sup>  | <b>0.001</b> |
| <b>22:6/20:5</b> | 25.04 ± 0.65 <sup>a</sup> | 21.43 ± 0.36 <sup>a</sup>  | 5.61 ± 0.66 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>Total</b>     | 15.13 ± 1.02 <sup>a</sup> | 8.79 ± 1.03 <sup>b</sup>   | 7.70 ± 0.98 <sup>b</sup>  | <b>0.010</b> |

Ver tabla XIX para abreviaciones.

**Tabla XXII.- Proporción (%) de ácidos grasos de la fracción polar durante el desarrollo larvario de organismos cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).**

Ver tabla XIX para análisis estadístico.

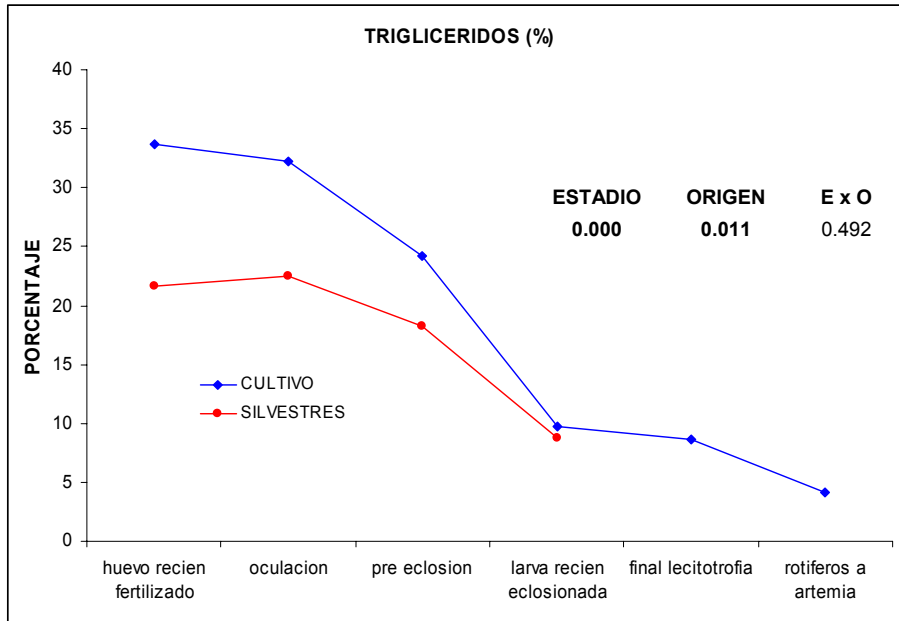
| Ácido graso      | Final de lecitotrofia      | Rotíferos a <i>Artemia</i>  | <i>Artemia</i> a hojuelas  | E            |
|------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------|
| <b>14:0</b>      | 0.32 ± 0.09 <sup>a</sup>   | 0.37 ± 0.09 <sup>a</sup>    | 0.66 ± 0.09 <sup>b</sup>   | <b>0.025</b> |
| <b>16:0</b>      | 21.64 ± 0.11               | 22.61 ± 0.12                | 19.35 ± 0.12               | N.S          |
| <b>18:0</b>      | 10.96 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 10.89 ± 0.05 <sup>a</sup>   | 16.08 ± 0.25 <sup>b</sup>  | <b>0.004</b> |
| <b>24:0</b>      | 1.23 ± 0.02 <sup>a</sup>   | 1.24 ± 0.04 <sup>a</sup>    | 2.29 ± 0.22 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>16:1n-9</b>   | 0.64 ± 0.02                | 0.66 ± 0.06                 | N.D.                       |              |
| <b>16:1n-7</b>   | 1.01 ± 0.08 <sup>a</sup>   | 0.98 ± 0.04 <sup>a</sup>    | 1.34 ± 0.09 <sup>b</sup>   | <b>0.018</b> |
| <b>18:1n-9</b>   | 9.65 ± 0.11                | 7.84 ± 0.65                 | 8.47 ± 0.11                | N.S          |
| <b>18:1n-7</b>   | 2.27 ± 0.16                | 3.74 ± 0.23                 | 5.84 ± 0.12                | N.S          |
| <b>20:1n-9</b>   | 0.97 ± 0.11 <sup>a</sup>   | 1.06 ± 0.09 <sup>a</sup>    | 5.21 ± 0.65 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>24:1n-9</b>   | 0.44 ± 0.05                | 0.57 ± 0.02                 | 0.92 ± 0.11                | N.S          |
| <b>18:2n-6</b>   | 1.12 ± 0.01                | 1.13 ± 0.05                 | 0.78 ± 0.08                | N.S          |
| <b>18:3n-3</b>   | 0.08 ± 0.02 <sup>a</sup>   | 0.13 ± 0.06 <sup>a</sup>    | 3.59 ± 0.23 <sup>b</sup>   | <b>0.000</b> |
| <b>20:4n-6</b>   | 4.15 ± 0.04 <sup>a</sup>   | 4.19 ± 0.07 <sup>a</sup>    | 1.89 ± 0.24 <sup>b</sup>   | <b>0.006</b> |
| <b>20:5n-3</b>   | 1.73 ± 0.49 <sup>a</sup>   | 1.97 ± 0.09 <sup>a</sup>    | 4.24 ± 0.16 <sup>b</sup>   | <b>0.007</b> |
| <b>22:4n-6</b>   | 0.67 ± 0.10 <sup>a</sup>   | 0.55 ± 0.05 <sup>a</sup>    | 1.91 ± 0.09 <sup>b</sup>   | <b>0.026</b> |
| <b>22:6n-3</b>   | 43.13 ± 0.35 <sup>a</sup>  | 42.06 ± 0.12 <sup>a</sup>   | 19.52 ± 0.36 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>∑ SAT.</b>    | 34.15 ± 0.65               | 35.12 ± 0.36                | 38.38 ± 0.62               | N.S          |
| <b>∑ MUFA</b>    | 14.33 ± 0.64               | 14.19 ± 0.12                | 21.79 ± 0.36               | N.S          |
| <b>∑ PUFA</b>    | 50.88 ± 0.42 <sup>a</sup>  | 50.03 ± 0.36 <sup>a</sup>   | 39.83 ± 0.54 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>∑ HUFA</b>    | 49.67 ± 0.31 <sup>a</sup>  | 48.77 ± 0.54 <sup>a</sup>   | 32.81 ± 0.17 <sup>b</sup>  | <b>0.000</b> |
| <b>Sat Index</b> | 303.49 ± 2.01 <sup>a</sup> | 298.02 ± 1.6.8 <sup>a</sup> | 220.65 ± 1.26 <sup>b</sup> | <b>0.000</b> |

Ver tabla XIX para abreviaciones.

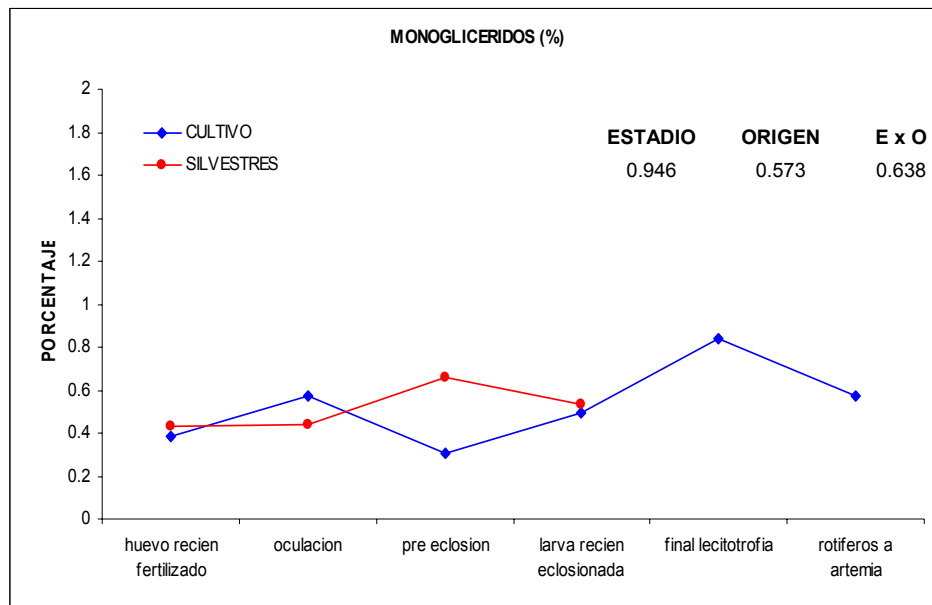
### 8.2.3. Variación de lípidos durante el desarrollo

Los lípidos separados y analizados por IATROSCAN fueron: ésteres de colesterol, colesterol, triacilglicéridos (TG), diglicéridos (DG) y fosfolípidos totales (PL) y sus proporciones se representan en las figuras 4 a 9.

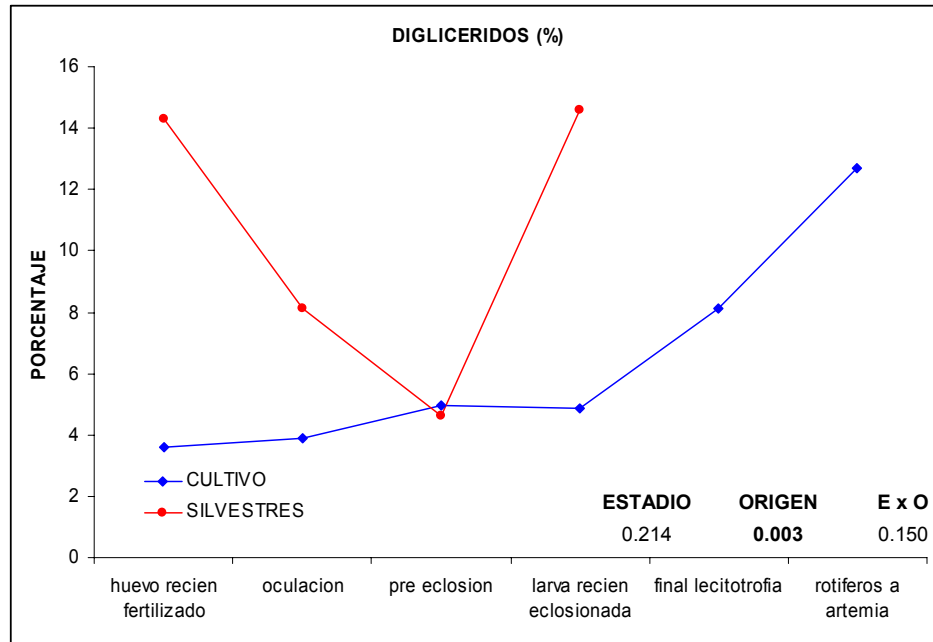
La proporción de TG (Figura 4) fue afectada por origen y estadio, con valores superiores en desoves provenientes de organismos cultivados y una disminución a lo largo del desarrollo en ambos orígenes. No se observan diferencias significativas para el porcentaje en los MG, manteniéndose entre valores menores del 1% durante el desarrollo (Figura 5). En relación a los DG (Figura 6) existe una diferencia significativa con respecto a origen, con mayores concentraciones y porcentajes en desoves de organismos silvestres. En relación a las proporciones de colesterol libre y ester de colesterol tampoco se observaron diferencias significativas (Figura 7 y 8). Finalmente la proporción de PL varió en relación al estadio, con valores menores en huevo y mayores alrededor de la eclosión y sin diferencia entre ambos orígenes (Figura 9).



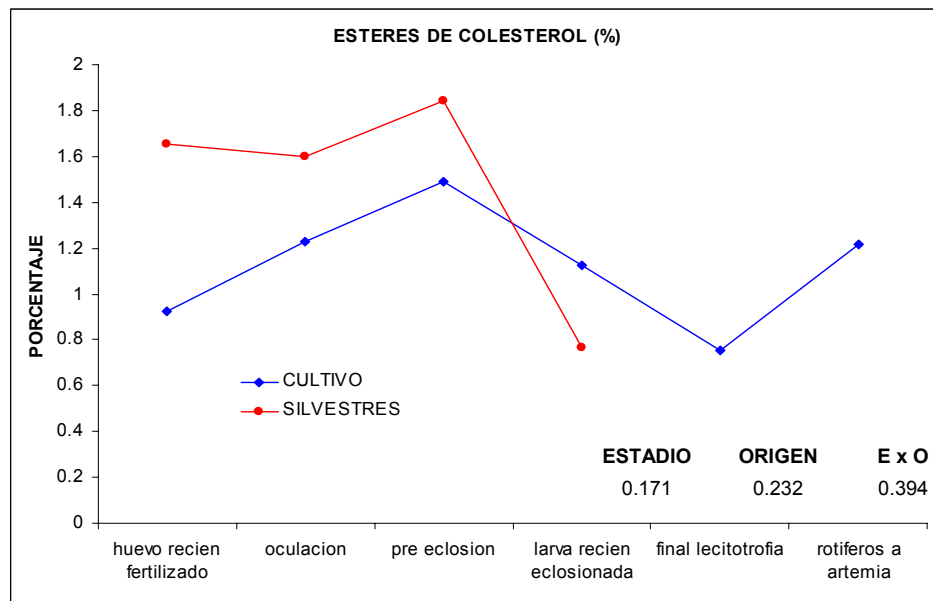
**Figura 4.-** Proporción (%) de triglicéridos durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).



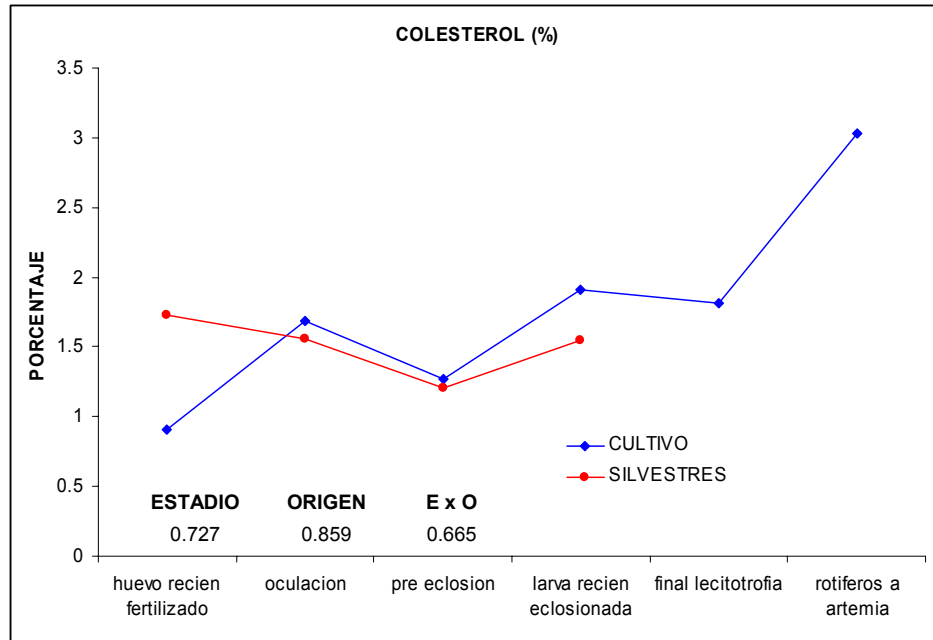
**Figura 5.-** Proporción (%) de monoglicéridos durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).



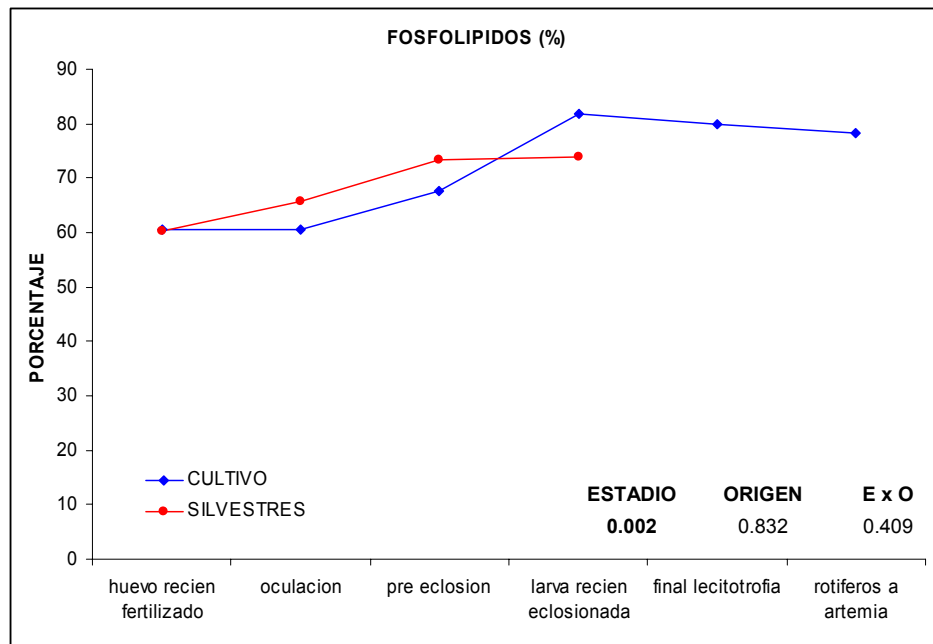
**Figura 6.-** Proporción (%) de digliceridos durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).



**Figura 7.-** Proporción (%) de ester de colesterol durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).



**Figura 8.-** Proporción (%) de colesterol durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).

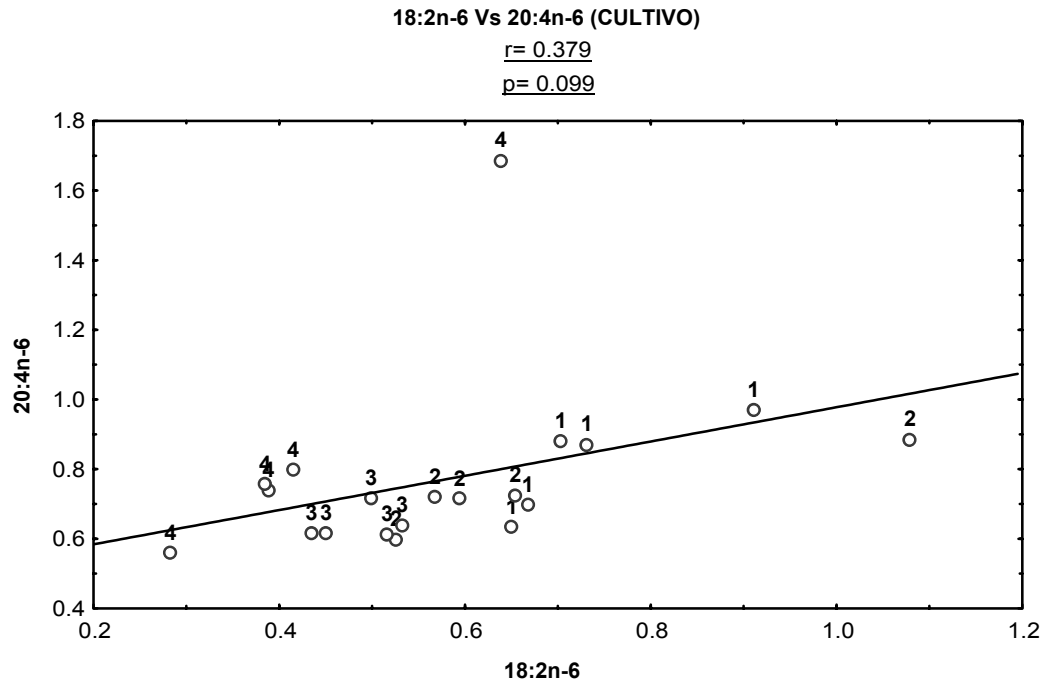


**Figura 9.-** Proporción (%) de fosfolípidos totales durante el desarrollo embrionario-larvario de organismos silvestres y cultivados de pez blanco (*Chirostoma estor estor*).

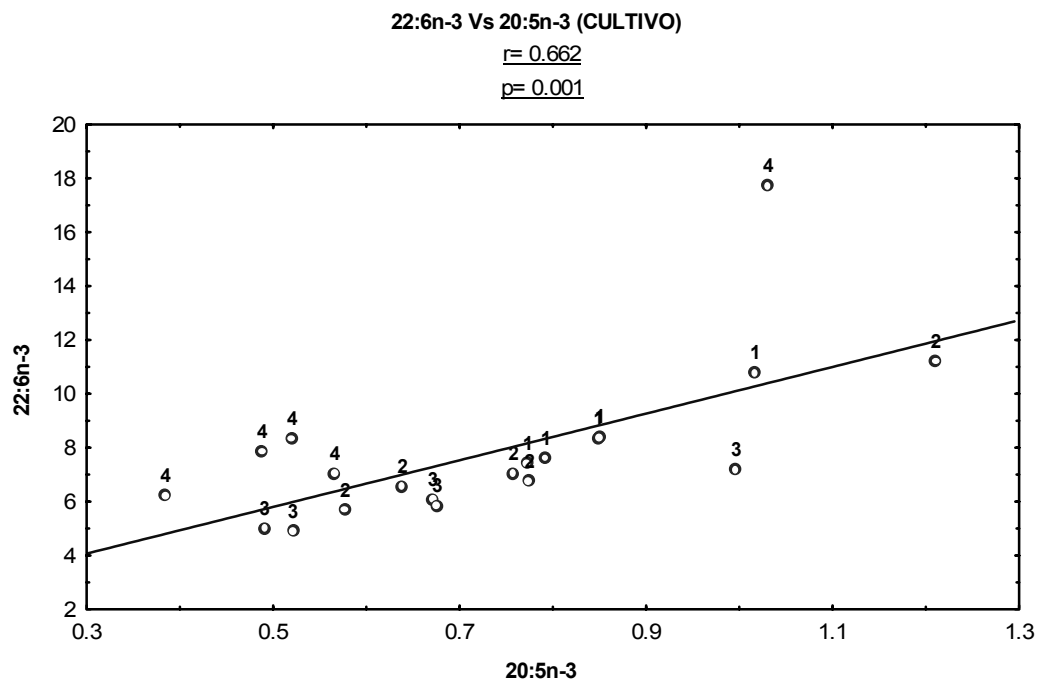
#### 8.2.4. Correlaciones entre ácidos grasos esenciales

Se realizaron correlaciones con las concentraciones individuales de ácidos grasos, usando la suma de cada ácido graso presente en la fracción neutra y polar, de los primeros cuatro estadios (1 = huevo recién fertilizado, 2 = huevo oculto, 3 = pre-eclosión y 4 = larva recién eclosionada) del desarrollo embrionario-larvario. En el caso de los desoves tanto silvestres como cultivados se obtuvieron correlaciones directamente proporcionales entre el 18:2n-6 y 20:4n-6, y entre el 20:5n-3 y 22:6n-3. Los resultados de estas correlaciones se presentan en las figuras 10 y 11 para cultivados y 12 y 13 para silvestres, respectivamente.





**Figura 10.-** Correlación entre los ácidos grasos 20:4n-6 y 18:2n-6 en los desoves de organismos cultivados.



**Figura 11.-** Correlación entre los ácidos grasos 22:6n-3 y 20:5n-3 en los desoves de organismos cultivados.

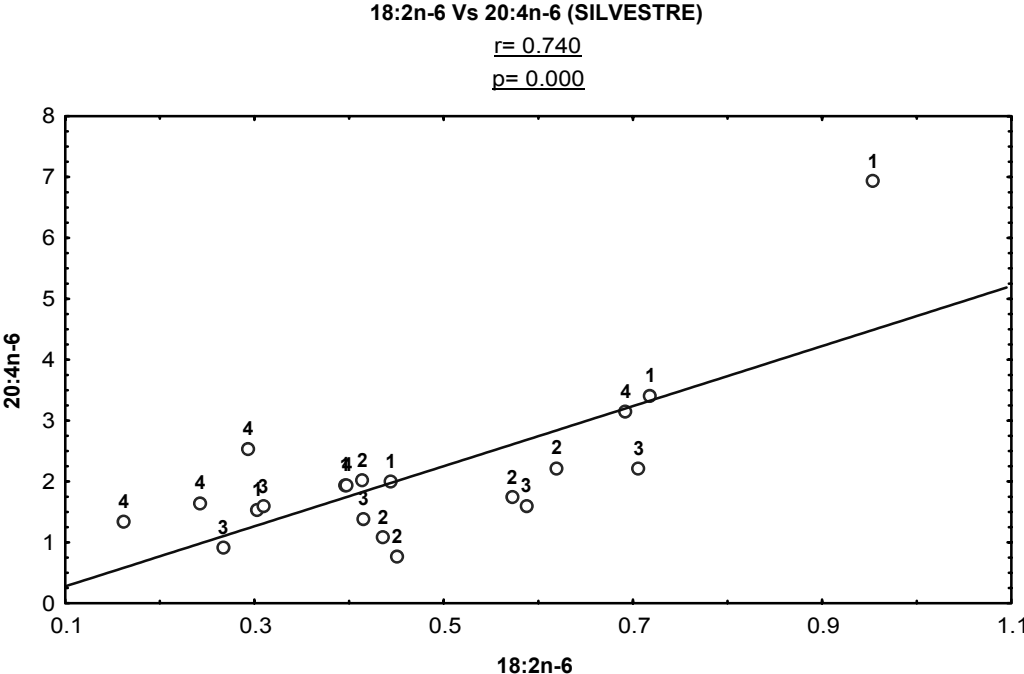


Figura 12.- Correlación entre los ácidos grasos 20:4n-6 y 18:2n-6 en los desoves de organismos silvestres.

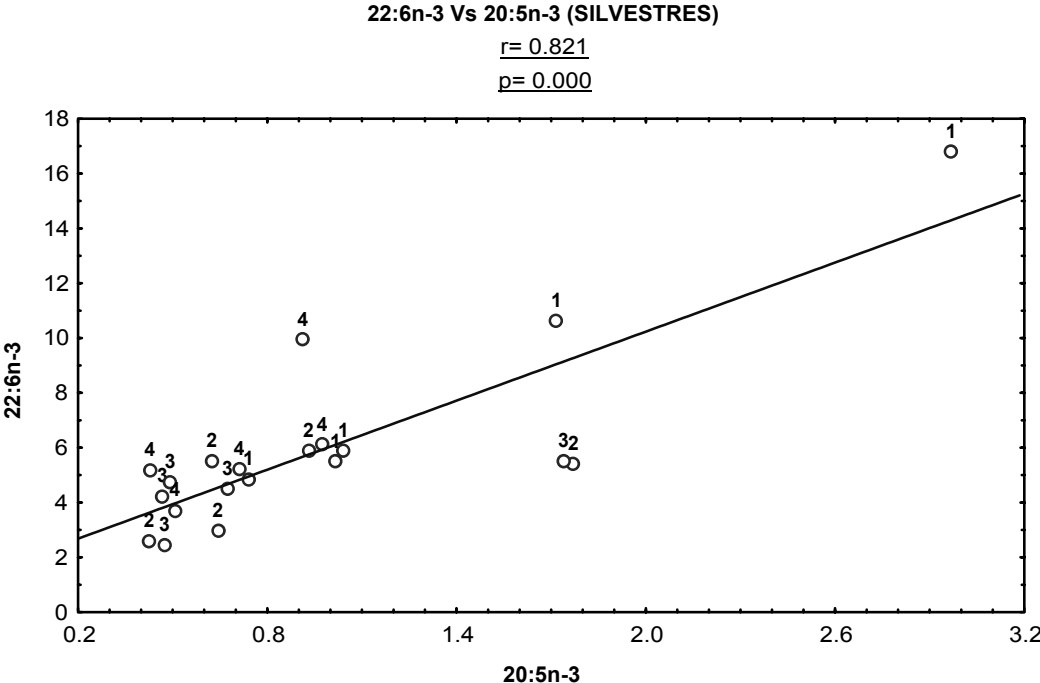


Figura 13.- Correlación entre los ácidos grasos 22:6n-3 y 20:5n-3 en los desoves de organismos silvestres.

## **9. DISCUSIÓN**

### **9.1. Ácidos grasos en la dieta y su influencia sobre reproductores de pez blanco.**

Las especies dulceacuícolas herbívoras en general son capaces de sintetizar ácidos grasos de 20 y 22 carbonos (ARA, EPA y DHA) a partir de sus homólogos de 18 carbonos (18:2n-6 y 18:3n-3) (Ackman y Kean-Howie 1995). Como se mencionó en la introducción, el pez blanco presenta similitudes con sus ancestros marinos (Morelos-López *et al.*, 1994; Campos-Mendoza, 2000) y dado que el pez blanco es una especie parcialmente carnívora (Solórzano, 1963) por ende, tiene mayor suministro de ácidos grasos de 20 y 22 carbonos (Sargent, 1995). Por lo anterior, la hipótesis de la presente tesis proponía que sus necesidades de ácidos grasos se asemejen a las de una especie marina, donde los ácidos grasos esenciales son ARA, EPA y DHA (Sargent 1995; Kanazawa, 1997). El pez blanco se alimenta en su medio natural de plancton, el cual se encuentra constituido generalmente de microalgas, larvas de insectos y de invertebrados. Los ácidos grasos presentes en el plancton muestreado del lago de Pátzcuaro se resumen en la tabla IV, en donde se puede observar que los ácidos grasos mayoritarios son, en orden de prioridad el 16:0, 20:5n-3 y 22:6n-3, pero el 20:4n-6 y el 18:2n-6 también se encuentran en una alta proporción (aprox. 4% cada uno). En este sentido, se observa que existe un fuerte aporte de EPA (13%) a partir de la dieta, por lo que se esperaría que las concentraciones de este ácido en los tejidos de la especie fuera sustancial. Sin embargo, el análisis de ácidos grasos en tejidos de pez blanco reveló niveles de EPA menores al 3%. Niveles bajos de EPA, aún cuando éste está presente en la dieta, podría indicar que el EPA es utilizado de forma preferencial como sustrato energético o precursor de otras moléculas sobre otros ácidos grasos. Se ha reportado que

el EPA es frecuentemente utilizado para fines energéticos, particularmente durante el desarrollo embrionario y larvario (Rainuzzo *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1999). Sin embargo, dado el papel estructural del EPA en las membranas celulares se esperaría que su uso como fuente de energía fuera limitado a periodos en los que los ácidos grasos saturados y monoinsaturados (MUFA) estuvieran en bajas concentraciones.

Otra posible explicación de la baja concentración de EPA podría ser una regulación de las concentraciones del EPA, dado que este ácido graso puede ser precursor de prostaglandinas (Bell *et al.*, 1996; Bell y Sargent, 2003) y modula la síntesis de estas hormonas a partir del ARA. Sin embargo, en otras especies de peces, donde se ha reportado síntesis de prostaglandinas a partir del ARA y del EPA (Bell *et al.*, 1997; Estevez *et al.*, 1997) no se observan niveles tan bajos de EPA como los que se observan aquí.

Otra posible explicación a los niveles tan bajos de EPA podría ser metodológica: es posible que durante el procesamiento del tejido, algunos lípidos se hayan oxidado o degradado, en particular los ácidos grasos polinsaturados de cadena larga (PUFA). Sin embargo, los niveles de otros PUFA aparentemente no fueron afectados tal como se aprecia por los niveles altos de DHA y ARA.

Los niveles bajos de EPA (menos del 3%) sobresalen si se comparan en relación con especies marinas. Por ejemplo, se ha reportado 9% de EPA en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Bell *et al.*, 2003), 9-15% en el pámpano (*Platichthys stellatus*) (Lee *et al.*, 2003) y 5-7% en la dorada (*Sparus aurata*) (Grigorakis *et al.*, 2002). Sin embargo, en especies de agua dulce como la gambusia (*Gambusia affinis*) (Cengiz *et al.*, 2003), el bagre africano (*Clarias gariepinus*) (Ng *et al.*, 2003) y el salmón keta (*Oncorhynchus keta*)

(Takeuchi *et al.*, 1979) se han encontrado niveles comparables de EPA, de alrededor del 1-2%. En estas especies dulceacuícolas y al parecer también en el caso del pez blanco el EPA podría estar en bajas concentraciones simplemente por su utilización como precursor en la síntesis del DHA. Mientras que la proporción de DHA en plancton es alta (11%), en la mayoría de los tejidos las proporciones de DHA fueron aun más altas, alrededor del 30%. Generalmente, se considera que el EPA es precursor del 22:5n-3, y este a su vez, del DHA (Figura 2). Esto podría indicar que, al menos en la etapa adulta, el pez blanco tiene la capacidad de síntesis de DHA a partir del EPA. La baja proporción de EPA concordaría con el uso de éste ácido graso casi en su totalidad como precursor del DHA, dado que el DHA tiene funciones más específicas que el EPA, tales como componentes estructurales de ojos y sistema nervioso (Bell *et al.*, 1986; Sargent *et al.*, 1993) influyendo de forma positivamente en el crecimiento y la supervivencia (Watanabe 1993; Kanazawa 1997). Sin embargo, basándose en lo que se sabe para mamíferos, Sargent *et al.* (1995), han propuesto que la ruta de síntesis de DHA en peces no es tan sencilla e involucra los ácidos grasos de 24 carbonos (Figura 14). Dicha ruta había sido propuesta previamente para mamíferos (Voss *et al.*, 1991), dado que la delta-4-desaturasa no ha sido aislada aún para vertebrados, por lo que su existencia ha sido puesta en duda (Sargent, 1995). En la ruta representada en la figura 13, se elongan el 22:5n-3 y el 24:5n-3 a partir del EPA, y se usa una delta-6-desaturasa para producir 24:6n-3. La delta-6-desaturasa ha sido descrita en humanos (Williard *et al.*, 2001) y otros mamíferos (Bridges y Coniglio, 1970; Alvarez *et al.*, 1994). A partir de este ácido graso, se realiza un acortamiento peroxisomal de la cadena para producir DHA, lo cual ha sido ya demostrado en humanos (Moore *et al.*, 1995;

Ferdinandusse *et al.*, 2001). En este trabajo existen ciertos indicios que sugieren que esta vía de síntesis también es utilizada en el caso del pez blanco. En primer lugar, en algunos tejidos, tales como el cerebro, se observaron dos picos en el tiempo de retención correspondiente al DHA que preliminarmente se sugiere que correspondan a DHA en configuración *cis* y DHA en configuración *trans* aunque se requiere de los estándares adecuados para confirmar esto. Asimismo, se observaron un par de picos con un tiempo de retención mayor al DHA, que se están identificando tentativamente como 24:5n-3 y 24:6n-3 (actualmente se está verificando esta identificación por medio de una colaboración externa). Si la ruta de la figura 14 es la que ocurre en el pez blanco, esto explicaría la producción de dos picos de DHA, dado que el acortamiento no es enzimático, sino químico, con producción indistinta de DHA *cis* y *trans* (E. Palacios, comunicación personal). Como consecuencia, surgen varias las posibilidades:

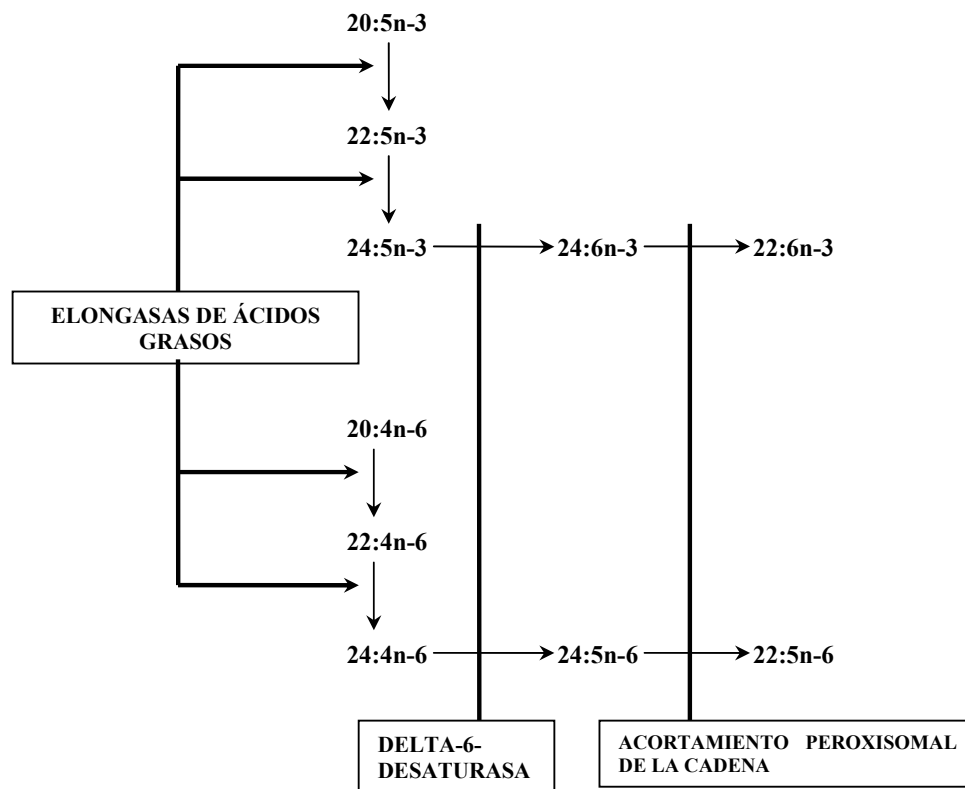
1. Si la ruta de síntesis en peces es como la de la figura 14 y si se considera que la dieta tiene menores niveles de DHA, esperaríamos que todos los precursores del DHA estuvieran en bajas concentraciones (EPA, 22:5n-3, 24:6n-3) para compensar debido al incremento en la síntesis de DHA.

2. Si los niveles de los precursores (18:3n-3 y EPA) en la dieta son adecuados o altos, esperaríamos un incremento en cualquiera de los precursores anteriores (18:3n-3, EPA, 22:5n-3, 24:5n-3, 24:6n-3), en un intento del organismo por regular el DHA.

3. Si los niveles de HUFA y particularmente EPA y DHA en la dieta son adecuados o altos, esperaríamos que los de EPA fueran en particular altos, dado que el DHA está más estrictamente regulado que el EPA.

En el caso de la alimentación de organismos silvestres de pez blanco con plancton, estaríamos considerando el caso número 2, donde se observan acumulaciones

de 24:5n-3 y 24:6n-3, pero no de EPA. La acumulación preferencial de ácidos grasos de 24 carbonos en vez de EPA podría deberse a que el EPA está siendo transformado en estos dos ácidos grasos que son acumulados en los tejidos. La presencia de los ácidos grasos de la serie n-3 de 24 carbonos ha sido descrita en mamíferos (Luthria *et al.*, 1996; Williard *et al.*, 2001), y su acumulación aparentemente tiene una función específica, porque se siguen sintetizando aún cuando el DHA está disponible al organismo en altas concentraciones (Williard *et al.*, 2001b).



**Figura 14.-** Mecanismo de desaturación y síntesis de DHA (de acuerdo a Sprecher 1993)

## 9.2. Composición de ácidos grasos en tejidos.

La composición bioquímica de los tejidos en peces, especialmente el contenido de lípidos, es altamente variable, incluso en la misma especie (Shearer, 1994). Numerosos factores contribuyen a esta variabilidad, tales como: la disponibilidad de alimento, la localización de la captura, el tamaño del pez, el estado de madurez sexual, la variabilidad individual, el tamaño de la muestra (Kiessling *et al.*, 1989) y la parte del pez de donde fue tomada la muestra (Hardy y King, 1989). El presente estudio es un ejemplo de este último caso, donde se observa una gran variabilidad de ácidos grasos entre los cinco tejidos muestreados. Los resultados obtenidos eran de esperarse, dada la función particular de cada tejido. En el caso del hígado, éste es el órgano que tiene el papel principal en la digestión de lípidos (Henderson y Tocher, 1987). El perfil de ácidos grasos en la fracción neutra del hígado es variable, en general representado el perfil de los ácidos grasos de la dieta. Sin embargo, en la fracción polar del hígado es posible que la composición sea más estable debido a que los ácidos grasos presentes en esta fracción se encuentran formando parte de las estructuras celulares de este tejido. Los reproductores silvestres de pez blanco se alimentan del plancton del medio natural. La composición de este alimento se describe en la tabla IV, en donde se puede observar que los ácidos grasos mayoritarios fueron en orden de prioridad, el 16:0, 20:5n-3, 22:6n-3 y el 18:0. Los ácidos grasos mayoritarios en el hígado fueron 16:0, 22:6n-3, 18:1n-9 y 16:1n-7 coincidiendo con la composición de la dieta a excepción del 20:5n-3 que se encuentra en mucha menor proporción en este tejido (entre 1 y 2%) en comparación con el alimento (13%). Cabe mencionar que las proporciones de los ácidos grasos esenciales EPA y ARA son menores a los reportados en hígado por Sheikh-Eldin *et al.* (1996) para la perca (*Macquarie perch*), una especie de agua dulce (4% y 10%



respectivamente), mientras que el DHA se encuentra en proporción mayor a la reportada por este autor (16%). Es necesario puntualizar que la comparación de ácidos grasos en el presente trabajo se realizó en relación a la fracción neutra, dado que es donde se presenta la mayor concentración de lípidos, mientras que en el trabajo de Sheikh-Eldin *et al.* (1996) se reportan ácidos grasos totales. Tal variación en este tejido, puede ser debida a que una vez que los ácidos grasos llegan al hígado, estos pueden sufrir varias transformaciones, tales como una modificación en la longitud de sus cadenas (elongación) y su grado de insaturación (desaturación), dependiendo de la maquinaria enzimática que tenga el organismo. Los ácidos grasos son entonces transferidos hacia otros tejidos, por medio de lipoproteínas o unidos a albúminas que circulan libres en la sangre (Newsholme, 1986).

Por otro lado, en el cerebro una de las principales funciones de los lípidos es actuar como aislantes al ser incorporados en la mielina (Farkas *et al.*, 2000; Sargent *et al.*, 1993). En este tejido se encontró una alta concentración de ácidos grasos en la fracción polar, de más del doble que en la fracción neutra. Además, se observó una alta concentración tanto de PUFA como de HUFA en la fracción polar, ya que son los principales componentes de fosfolípidos en este tejido. En el presente trabajo, se observa que el DHA (suma de los supuestos *cis* y *trans*) es el ácido graso mayoritario. Las proporciones de ácidos grasos mayoritarios en el presente trabajo son en general similares a las reportadas para otras especies de peces (Pagliarani *et al.*, 1986; Mourente y Tocher 1992; Shields *et al.*, 1999; Farkas, *et al.*, 2000), que en general coinciden con un muy alto porcentaje de DHA en cerebro. De hecho, el DHA es acumulado en el cerebro de robalo (*Dicentrarchus labrax*) independientemente de la dieta ofrecida (Pagliarani *et al.*, 1986). Una de las razones por las cuales el DHA se acumula en el

cerebro de peces es su necesidad, como organismos poiquiloterms, de modificar las propiedades biofísicas de las membranas, conocida como adaptación homeoviscosa, en relación a las fluctuaciones de temperatura y salinidad ambientales (Bell *et al.*, 1986; Tocher y Sargent, 1990; Farkas *et al.*, 2000; Khériji *et al.*, 2000). El DHA es uno de los ácidos grasos más utilizados para incrementar la fluidez de las membranas celulares a bajas temperaturas, dado su bajo punto de ebullición (Farkas *et al.*, 2000). Varios autores (Wodtke, 1978; Thillart *et al.*, 1981; Chang *et al.*, 1985) reportan la acumulación de DHA en membranas del cerebro durante la aclimatación a bajas temperaturas de distintas especies. Sin embargo, se ha reportado que en mamíferos no hay síntesis de DHA en las neuronas, pero sí en las células accesorias (Moore, 2001). Después del DHA, los ácidos grasos mayoritarios son el 18:1n-9, seguido por los saturados, específicamente el 16:0 y 18:0 y en menor proporción el ARA. La presencia de altos niveles de 18:1n-9, 16:0 y 18:0 posiblemente se debe a que son los ácidos grasos mayoritarios en la dieta y también forman parte de los lípidos membranales. Por otro lado, el ARA es el principal componente de fosfatidilinositol (Tanaka *et al.*, 2003), una clase de lípido especializado en la transducción de señales entre células (Sargent 1995).

Es necesario puntualizar la presencia de los dimetil-acetal (DMA) 18:0 y 18:1 tanto en la fracción neutra como polar del cerebro. Los DMA son producidos durante el metabolismo de plasmalógenos en los cuales los ácidos grasos están unidos al glicerol por medio de un enlace éter en vez de un enlace éster (Driedzic *et al.*, 1976; Bell *et al.*, 1985b; Nevelzel *et al.*, 1985). En otros trabajos también se ha reportado la presencia de ácidos grasos saturados, tales como el 18:0 unido por un enlace éster en la posición 1 del glicerol de los plasmalógenos (Oshima *et al.*, 1989; Medina *et al.*, 1993, 1995). La

posición 2 es generalmente ocupada por un PUFA unido por medio de un enlace éster al glicerol, por lo que no se produce un DMA. Los plasmalógenos están integrados en las membranas celulares y pueden encontrarse en altas concentraciones en algunos tejidos, tales como el cerebro de varios organismos (Mourente y Tocher 1992; Farooqu y Horrocks, 2001; Rosa *et al.*, 2004), o en otros tejidos de algunos organismos, tales como los moluscos (Soudant *et al.*, 1996). Se ha sugerido que dado el enlace éter en la posición 1 de los plasmalógenos, estos son más difíciles de atacar por las fosfolipasas, por lo cual los ácidos grasos presentes son conservados preferencialmente sobre los ácidos grasos de otros fosfolípidos; de esta forma, si el plasmalógeno contiene DHA o ARA en la posición 2, estos serían conservados (Farooqu y Horrocks, 2001). Sin embargo, en el pez blanco se encontraron DMA tanto en la fracción neutra como polar. Esto podría indicar ya sea contaminación de la fracción polar, o más probablemente la presencia de ácidos grasos unidos por enlaces éter no solo en fosfolípidos sino también en los acilglicéridos (Driedzic *et al.*, 1976).

Existen múltiples trabajos que reportan proporciones de ácidos grasos en músculo en especies dulceacuícolas y marinas. Un ejemplo de estos trabajos se encuentra sintetizado en la tabla II. La comparación entre especies marinas y dulceacuícolas es de interés en el presente trabajo, dado el origen marino relativamente reciente del pez blanco, pero su hábitat dulceacuícola. Krajnovic-Ozretic *et al.* (1994), reportan para el robalo (*Dicentrarchus labrax*) de hábitat marino, una alta acumulación de ácidos grasos saturados (73%) en el músculo de esta especie, mientras que Montero *et al.* (2001) reportan 38% de ácidos grasos saturados en el músculo de una especie marina, la dorada (*Sparus aurata*). En especies dulceacuícolas, tal como el bagre africano (*Clarias gariepinus*), la proporción de ácidos grasos saturados reportada es

similar a la del presente trabajo, de 23 a 32% (Ng *et al.*, 2003). En otras especies, la proporción de EPA varía entre 4 y 6% para la dorada (*Sparus aurata*), o entre 4 y 6% para el músculo del salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Bell *et al.*, 2001), o de 5 a 15% para el lenguado (*Scophthalmus maximus*) (Bell *et al.*, 1985b), en comparación con el 1 a 3% reportado en este trabajo. En contraste con lo anterior, se observó una alta proporción de DHA en este tejido para ambos sexos (27% en la fracción neutra y 34% en la polar), tanto en los fosfolípidos denotando su importancia en las membranas celulares (Izquierdo *et al.*, 1989a; Watanabe *et al.*, 1989), como en los acilglicéridos. Esta alta proporción de DHA es inclusive mayor a los valores reportados para especies como el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Bell *et al.*, 2001) y 20% para el rodaballo (*Scophthalmus maximus*) (Bell *et al.*, 1985b) que varía entre el 18 y 20%. Sin embargo, es similar al valor reportado en la limanda (*Limanda ferruginea*) (Dwyer *et al.*, 2003) que es de 28%. Esta acumulación preferencial de DHA en la fracción neutra podría deberse a la dieta del organismo, como fue reportado para otras especies, tal como el esturión (Xu *et al.*, 1993).

En contraste, una especie de agua dulce, el pangio (*Macquaria australasica*) presenta bajos valores de DHA en el músculo (8%) (Sheikh-Eldin *et al.*, 1996). Se ha reportado un patrón más o menos constante e independiente de la dieta en el músculo de otras especies, como la trucha (*Salmo trutta*) (Arzel *et al.*, 1994). Debido a esto, el efecto de la dieta sobre la composición de ácidos grasos en músculo es aún controvertida, ya que Ng *et al.* (2003) concluyen que los ácidos grasos saturados, tales como el 16:0, son acumulados independientemente de la dieta. El tejido adiposo es la principal reserva de lípidos, particularmente triacilglicéridos (TG), en peces (Sargent, 1995). Durante la actividad física prolongada o durante la maduración de la gónada, los

TG son hidrolizados en el tejido adiposo en tres ácidos grasos y un glicerol y estos son liberados al torrente sanguíneo para ser utilizados principalmente como combustibles por otros tejidos (Lehninger, 1975). Dado el papel de reserva de combustibles en TG del tejido adiposo, se presentó una considerablemente mayor concentración de ácidos grasos totales en la fracción neutra en relación a la polar de tejido adiposo, o en comparación a cualquier de las dos fracciones en los otros tejidos. Se observó que la mayor concentración la presentaron los PUFA y los HUFA (67 y 54 mg/g respectivamente), indicando que los PUFA pueden ser almacenados como reserva energética o estructural para utilización posterior. Como consecuencia, se sugiere que la dieta de estos organismos tiene niveles suficientes de HUFA o que, como se discutió antes, el pez blanco tiene la capacidad de sintetizar HUFA. Es interesante que el tejido adiposo presente mayores concentraciones de EPA en comparación con otros tejidos, principalmente en la fracción neutra. Esto indica que dicho ácido graso se encuentra disponible para ser utilizado como energía o como precursor de DHA cuando se requiera. Por otro lado, la fracción polar del tejido adiposo presentó una muy alta proporción de ARA, lo cual indica que están siendo acumulados en fosfolípidos y por ende, su uso como fuente de energía estaría limitado, pero podría ser utilizado ya sea como componente del fosfatidilinositol del propio tejido adiposo que tiene receptores o diversas hormonas que actúan a través del segundo mensajero inositoltrifosfato (CITAS). Alternativamente podría ser una reserva para síntesis de prostaglandinas. En este sentido es posible que el organismo se este preparando con acumulaciones importantes de ácidos grasos con función energética, estructural y precursora para procesos como la reproducción, que implica la transferencia de estos ácidos grasos hacia la gónada, lo que se discutirá más a fondo en la siguiente sección.

### 9.2.1. Diferencias entre sexos.

En arenque (*Clupea harengus*), como en otras especies marinas, la gónada de las hembras acumula durante la reproducción grandes cantidades de lípidos para ser transferidos a los huevos, mientras que en los machos la acumulación de lípidos no es tan importante (Sargent, 1995). Dada la función particular de la gónada entre machos y hembras, se esperaba, que la composición de ácidos grasos de la fracción neutra fuera distinta. Sin embargo, el presente estudio no corrobora lo anterior, por lo menos en relación a la concentración de ácidos grasos. Esto podría deberse a que las hembras muestreadas aún no estaban maduras y se encontraban iniciando el proceso de maduración. Por otro lado es posible que no haya diferencias entre machos y hembras aun en su máximo desarrollo gonádico, tal como se ha visto para el dentón (*Dentex dentex*), una especie marina, cuyas concentraciones de lípidos entre machos y hembras sexualmente maduros fue similar (Chatzifotis *et al.*, 2004).

La concentración de algunos MUFA en ambas fracciones y en particular del 18:2n-6 en la fracción polar y del ARA en la fracción neutra fueron mayores en el caso de machos. Asimismo, se observó una mayor proporción de ARA (y por ende, de PUFA) en la fracción neutra de la gónada de machos. El ARA es un precursor de las prostaglandinas (Bell y Sargent 2003) y generalmente es acumulado en los fosfolípidos, particularmente en el fosfatidilinositol (Tanaka *et al.*, 2003). Sin embargo, las diferencias entre sexos se observaron en la fracción neutra, con mayores proporciones en la gónada masculina. La menor concentración de ácidos grasos de la serie n-6, específicamente de ARA en la fracción neutra en gónada de hembras podría deberse a su uso para la síntesis de prostaglandinas durante la maduración, o más específicamente, durante el desove, dado que es el precursor de prostaglandinas necesarias para la

contracción del músculo liso durante la expulsión de los huevos (Van der Kraak y Chang, 1990; Mercure *et al.*, 1996; Sorbera *et al.*, 2001; Sargent *et al.*, 1989, 1995).

En relación a la proporción de ácidos grasos, se presentaron algunas diferencias significativas entre la gónada de hembras y machos, pero estas diferencias se observaron tanto en la fracción neutra como en la polar. En las gónadas de hembras, la proporción del total de los ácidos grasos saturados fue mayor, lo cual se debió principalmente a la mayor proporción de 16:0. Aras *et al.* (2003), reporta para la trucha (*Salmo trutta labrax*) una mayor proporción pero de MUFA en gónadas. Tanto los ácidos grasos saturados como los MUFA generalmente son utilizados como combustible durante la gonadogénesis, de ahí su acumulación en la fracción neutra en forma de TG. Su alta proporción en la gónada femenina puede deberse a la transferencia hacia los huevos, donde también son usados como combustibles durante la etapa de lecitotrofia. En concordancia, se ha reportado que la mayoría de los lípidos que son transferidos de la gónada hacia los huevos son TG, que representan la energía metabólica para el desarrollo embrionario (Fraser, 1989; Sargent *et al.*, 1999).

Los ácidos grasos que se acumulan en la gónada durante la maduración provienen de la dieta o de la movilización desde otros tejidos. Uno de los principales tejidos de donde se transfieren ácidos grasos a la gónada es el tejido adiposo. Los TG de este tejido son hidrolizados y los ácidos grasos transportados al hígado, donde se reagrupan en lipoproteínas que son transportados a la gónada durante la maduración. Pero los ácidos grasos que forman parte de las membranas del tejido adiposo, no deberían de estar afectados de forma importante durante la reproducción. Como consecuencia, se esperaban diferencias entre sexos en relación a los ácidos grasos presentes en la fracción neutra, pero no en la polar. Efectivamente, se observaron

diferencias en la concentración de ácidos grasos de la fracción neutra, pero dado que las hembras requieren mayor cantidad de lípidos que los machos, se esperaba que el tejido adiposo de hembras maduras presentara menores niveles de ácidos grasos en la fracción neutra. Sin embargo, se observó que la concentración de ácidos grasos saturados, PUFA y HUFA fueron significativamente mayores en hembras que en machos. Nuevamente, esto podría deberse a que las hembras se encontraban aún las fases iniciales del proceso de maduración gonádica, por lo que los lípidos estaban en proceso de acumulación en tejido adiposo para ser usados más tarde, durante la maduración final. Con respecto a la proporción de ácidos grasos en el tejido adiposo, se esperaba que dada la necesidad de algunos ácidos grasos en la maduración gonádica, tales como 16:0, DHA y ARA, estos disminuyeran su proporción en la fracción neutra de tejido adiposo de hembras. Sin embargo, solamente se observaron diferencias para el 16:1n-9 y el 22:4n-6.

En contraste con las diferencias en la concentración y proporción de ácidos grasos que se esperaban encontrar en la gónada y el tejido adiposo entre hembras y machos, se esperaban diferencias menores entre los dos sexos en relación a los niveles de ácidos grasos en cerebro y músculo, dado que estos tejidos cumplen con funciones similares tanto en hembras como en machos. Sin embargo, si se obtuvieron diferencias. En cerebro, se observó una mayor concentración de HUFA en la fracción neutra de machos y una tendencia similar en la fracción polar. Sin embargo, es difícil suponer que estas diferencias se deban a una transferencia más importante de HUFA desde el cerebro hacia las gónadas en hembras, en comparación con los machos, dado que las funciones de los HUFA son esenciales en el sistema nervioso. También se observaron diferencias significativas en la proporción de 18:1DMA y una tendencia a mayor proporción de 18:0DMA en la fracción polar en machos. Hasta la fecha, no se



encontraron trabajos que comparen el contenido lipídico de este tejido entre ambos sexos.

En el hígado, se observó una mayor concentración de 18:1n-9 en la fracción polar de hembras. Una acumulación de este ácido graso en el hígado de hembras podría indicar una menor transferencia a otros tejidos. Sin embargo, su concentración es mayor en los lípidos polares, por lo que posiblemente cumple con alguna función en hígado a nivel de membrana. Otra posibilidad sería una mayor acumulación de 18:1n-9 en las lipoproteínas en proceso de formación en el hígado, lo cual podría explicar su presencia en la fracción polar. Por otro lado, las proporciones de otros ácidos grasos variaron significativamente en relación al sexo muestreado, pero en particular en la fracción neutra. Esto podría indicar que mientras los lípidos totales que salen del hígado hacia otros tejidos son similares entre sexos, las hembras tienden a seleccionar algunos ácidos grasos, tales como el 18:0, 20:0, 20:1n-9 de la fracción neutra y el 18:2n-6 en la polar para ser incorporados en las lipoproteínas, mientras que otros, tales como el 16:1n-7 de la neutra y el 18:1n-9 de la polar permanecen en el hígado.

En músculo, se observó una mayor concentración y proporción de 18:2n-6 en lípidos polares de machos así como de la proporción de 18:0 en la fracción neutra. La mayor cantidad del 18:2n-6 en el músculo de machos, concuerda con las mayores concentraciones de ácidos grasos de la serie n-6 en las gónadas de machos. Es posible que las hembras movilizan este ácido graso hacia otros tejidos prioritarios en la reproducción, mientras que los machos lo acumulan en músculo debido a que estos destinan más energía a la actividad natatoria que a la reproducción (Sargent, 1995). Tanto la concentración como la proporción de 20:5n-3 tendieron a ser mayores en la fracción neutra de hembras. A pesar de que la concentración de EPA tendió a ser mayor

en hembras, los niveles se encuentran muy por debajo del porcentaje de 6 y 12 % en fracción neutra y polar respectivamente, reportado por Montero *et al.* (2001) para el músculo de una especie marina.

### 9.3. Composición lipídica en huevos.

Como se mencionó en los antecedentes, las especies marinas producen grandes cantidades de huevos pequeños, mientras que las dulceacuícolas producen huevos más grandes con mayores cantidades de TG. Como consecuencia, en general se considera que las especies dulceacuícolas presentan mayores niveles de TG, mientras que las marinas tienen una mayor proporción de fosfolípidos (Sargent *et al.*, 1997) los cuales llegan a tener un papel energético importante, en particular la fosfatidilcolina (Ronnestad *et al.*, 1998). En pez blanco los fosfolípidos fueron los lípidos mayoritarios en huevos de ambos orígenes, lo cual concuerda con reportes para especies de origen marino, tales como el lenguado (*Hippoglossus hippoglossus*) (1995). De esta forma, se observa que en el tipo mayoritario de lípido acumulado en el huevo, el pez blanco se asemeja más a sus ancestros marinos, ya que estos dependen más de fosfolípidos durante la embriogénesis que los dulceacuícolas. La acumulación de fosfolípidos también concuerda con una corta duración del desarrollo embrionario y una corta etapa de lecitotrofia en el pez blanco (Morelos-López *et al.*, 1994; Campos-Mendoza, 2000).

Los huevos almacenan grandes cantidades de vitelo para proveer de energía al embrión y a la larva durante el desarrollo lecitotrófico. Dado que durante este periodo no hay ingesta, el huevo por lo general refleja la dieta ingerida por el reproductor, lo cual explica las diferencias de lípidos en huevos en relación a la alimentación de

reproductores (Sargent, 1995; Almansa *et al.*, 1999; Izquierdo *et al.*, 2001; Mourente y Odriozola 1990). En el presente trabajo, los organismos cultivados fueron alimentados *ad libitum*, mientras que en caso de los silvestres no se puede saber si la disponibilidad de alimento fue suficiente. Además, el tipo de alimento fue muy diferente en ambos casos, lo cual puede explicar en buena medida las diferencias entre ambos orígenes lo cual se estará considerando a lo largo de esta sección. Ackman (1989) y Shearer (1994) reportan que los organismos alimentados con dietas comerciales muestran una mayor cantidad de grasa que sus equivalentes silvestres. Como consecuencia, se podría inferir que los cultivados tenían mayores reservas de lípidos en los tejidos y que estos lípidos fueron transferidos en mayor cantidad a la gónada y de ahí al huevo en comparación con los silvestres. Dado que la proporción de TG fue mayor en organismos de cultivo, esto indicaría que la proporción de otros lípidos en huevos de organismos silvestres fue mayor que en cultivados, a expensas de la proporción de TG. Cuando se comparan huevos de la misma especie, se considera que aquellos con mayores almacenes de TG tienen mayor probabilidad de desarrollarse hasta larvas (Fraser, 1989; Blaxter y Hempel, 1963). En el presente trabajo y en relación con la proporción de TG en huevo, se observa una mayor cantidad de este lípido en los organismos cultivados (34% vs. 22% en silvestres). Como consecuencia, esperaríamos que los desoves provenientes de organismos cultivados presentaran un mejor desempeño (porcentaje de eclosión, supervivencia de larvas, etc.). Lamentablemente, las variables asociadas con el desempeño no fueron evaluadas. Sin embargo, la percepción durante el cultivo de pez blanco es que las larvas de organismos cultivados presentan una menor longitud en comparación con las larvas de organismos silvestres y que en consecuencia, son resultado de una menor calidad de huevo (G. Ríos-Durán, comunicación personal). Esto

aparentemente no concuerda con lo obtenido en el presente trabajo. Sin embargo, es necesario hacer un par de consideraciones: Cuando los TG son utilizados, se hidrolizan en glicerol, ácidos grasos y mono- (MG) y diacilglicéridos (DG). Una variación en los niveles de MG o ácidos grasos libres indicaría una hidrólisis o utilización de reservas durante el desarrollo. En el presente trabajo, no se observó diferencia en la proporciones de MG en relación al origen o en relación al desarrollo. Sin embargo, la proporción de DG fue mayor en los huevos de organismos silvestres (14% vs. 4%). Así, la proporción de acilglicéridos (TG + DG + MG) en huevos de organismos silvestres y domesticados es similar (37 y 38%, respectivamente). La proporción de fosfolípidos totales, que también pueden aportar energía, fue similar (60%) entre ambos orígenes, El colesterol y los esteres de colesterol se encontraron en bajas proporciones en relación al resto de las otras clases de lípidos, en concordancia con los resultados reportados por MacFarlane y Norton (1999), para una especie de cabrilla del género *Sebastes sp.* No se observaron diferencias entre ambos orígenes, por lo cual la energía aportada a partir de los ácidos grasos de los esteres de colesterol tampoco representa una diferencia en reservas energéticas entre ambos orígenes. Es importante señalar, sin embargo, que en el presente trabajo solo fue posible reportar los resultados en términos de porcentaje de lípidos y no de concentración absoluta por lo cual no fue posible calcular la cantidad real de energía presente en los distintos lípidos. Sin embargo, el cálculo de ácidos grasos totales si permite hacer algunas comparaciones. En este sentido al comparar las concentraciones de ácidos grasos totales, se observa que los huevos de silvestres tienen mayores concentraciones que los cultivados tanto en los lípidos neutros (21 mg/g vs. 17 mg/g, respectivamente) como en los polares (16 mg/g y de 9 mg/g, respectivamente). Así, mientras que las proporciones de acilglicéridos y otras clases de lípidos son

similares entre orígenes, la concentración total de ácidos grasos utilizados como fuente de energía es mayor en silvestres. La alta concentración de ácidos grasos totales presentes tanto en los acilglicéridos como en los fosfolípidos (probablemente fosfatidilcolina como clase mayoritaria) de los huevos provenientes de organismos silvestres implica una mayor reserva de lípidos para usos energéticos y, por ende, representaría una mejor condición sobre los organismos cultivados (Fraser, 1989).

En relación a los ácidos grasos particulares de huevos, no se observaron diferencias para el EPA entre ambos orígenes, pero sí para la proporción del DHA que fue mayor en organismos cultivados tanto en concentración como en proporción en caso de los lípidos neutros o al menos en proporción en caso de los polares. El bajo contenido de DHA en huevos de organismos silvestres concuerda con lo reportado por Sheikh-Eldin *et al.* (1996) para organismos silvestres de gambusia (*Macquaria australasica*) quien reporta la preferencia de organismos silvestres de esa especie por acumular ARA sobre DHA, y la relación entre el contenido de DHA en la dieta de reproductores y su contenido en los desoves. Los ácidos grasos de la fracción polar tienen un papel importante en la formación de estructuras de membranas celulares y en particular el DHA es necesario en altas concentraciones para el desarrollo visual y nervioso (Sargent *et al.*, 1993). Por otro lado, la proporción relativa de DHA en los fosfolípidos de la membrana celular tiene influencia sobre la fluidez de las membranas celulares. A menores temperaturas, se observa acumulación de DHA en las membranas (Hazel *et al.*, 1991; Kanazawa 1997; Logue *et al.*, 2000). También se ha visto un aumento en el DHA en relación a un incremento en la salinidad (Bell *et al.*, 1986; Kheriji *et al.*, 2003; Leray *et al.*, 1984). Una menor concentración de DHA puede deberse a que los organismos silvestres estuvieron expuestos a condiciones ambientales

distintas en comparación con los cultivados, Aunque no se tomaron los valores de temperatura y salinidad del medio natural, se puede sugerir que, aunque la salinidad fue similar, la temperatura fue menor en el lago de Pátzcuaro que en las tinas del INIRENA. Una menor temperatura para los organismos silvestres pudo haber implicado cierta retención de DHA en sus tejidos y por ende una menor transferencia hacia los huevos. En cualquier caso, se ha reportado un mejoramiento en la eclosión de los huevos de peces que tienen un alto contenido de DHA en sus lípidos totales (Watanabe *et al.*, 1984; Shimma *et al.*, 1997). Sin embargo, en este trabajo se observó un rendimiento similar de larvas entre organismos silvestres y cultivados por lo cual es posible que los altos niveles de DHA observados en general para ambos orígenes hayan estado por arriba de un nivel crítico que pueda comprometer la eclosión. Además Kanazawa *et al.* (1980) mencionan un mayor efecto del ARA como promotor del crecimiento en comparación con el DHA en la tilapia (*Oreochromis niloticus niloticus*). Es posible que una mayor cantidad de ARA en organismos silvestres, observada en este trabajo y que será analizada mas adelante, represente un sustituto del DHA para algunas funciones. Por ejemplo y dado que el DHA tiene un papel benéfico ante el estrés (Kanazawa 1997), los organismos silvestres a pesar de tener menos DHA cuentan con la protección ante el estrés que ofrece el ARA, tal como se analizará mas adelante. Finalmente es importante resaltar que los porcentajes de DHA (de 22 a 34%) en ambos orígenes y ambas fracciones de lípidos son mayores a los reportados en comparación con otras especies; por ejemplo 22% en róbalo (*Dicentrarchus labrax*) (Bell *et al.*, 1997) y 21% para la dorada (*Sparus aurata*) (Mourente y Odriozola 1990) y similares a lo reportado por Koven *et al.* (1989) para larvas de *Sparus aurata* (35%). Esto es hasta cierto punto sorprendente principalmente en los cultivados cuya dieta (*Artemia*) tiene niveles bajos

de DHA, de hecho nulos, aunque en el caso del alimento peletizado, su contenido (%) es similar al reportado para el plancton (Tabla IV) indicando una mayor transferencia de este ácido hacia los huevos de organismos cultivados.

En contraste, los niveles de EPA son muy inferiores, (>4%) en comparación con 12% reportado por Bruce *et al.* (1993) para especies como el lenguado (*Hippoglossus hippoglossus*) y entre 12 y 14% para el bacalao (*Gadus morhua*) (Fraser *et al.*, 1988). Las altas concentraciones de DHA y bajas de EPA en los huevos, en contraste con los distintos alimentos en los cuales por lo general el EPA predomina sobre el DHA, nuevamente indican que los reproductores utilizaron el EPA para sintetizar DHA y que fue éste el que se acumuló y transfirió a los huevos. Es importante resaltar la alta proporción de ácido linoléico (18:2n-6) tanto en la fracción neutra como la polar de huevos provenientes de organismos de cultivo en comparación con los silvestres. Para empezar, esta acumulación concuerda con una disminución de 18:2n-6 en los tejidos de las hembras. Pero la diferencia entre silvestres y domesticados probablemente se debe a la alimentación de los reproductores de cultivo con adultos de *Artemia* y alimento peletizado, los cuales tienen alrededor de 4% y 9% de este ácido graso, respectivamente. En contraste con la abundancia de 18:2n-6 en los huevos de cultivo, su derivado, el 20:4n-6 en ambas fracciones está a concentraciones muy por debajo de las presentes en huevos silvestres. Esto podría indicar una síntesis reducida de 20:4n-6 en huevos provenientes de organismos cultivados. Es posible que el huevo aún no presente la maquinaria enzimática necesaria para elongación y desaturación de HUFA en ninguno de los dos orígenes, y que los adultos silvestres hayan tenido una mayor reserva de ARA para ser transferido a los huevos. Desgraciadamente no fue posible comparar la composición de ácidos grasos de adultos de ambos orígenes y únicamente se pueden

hacer inferencias a partir de la dieta. En este sentido, el alimento ofrecido a organismos cultivados (adultos de *Artemia* y peletizado) contiene una cantidad relativamente baja de éste ácido graso (alrededor de 4% y 2% respectivamente) (Léger *et al.*, 1986; Navarro *et al.*, 1992). Sin embargo, los niveles de ARA son comparables a lo obtenido en plancton (4%) (Tabla 3), aunque no se puede descartar que los organismos silvestres pudieron haber consumido otro tipo de alimento en el lago. Últimamente, los requerimientos del ARA han estado bajo fuertes controversias. Por un lado, se ha propuesto que un exceso de ARA puede ser perjudicial (Sargent *et al.*, 1999; Bell y Sargent, 2003), mientras que por el otro, se ha reportado que éste ácido graso en particular cumple con un papel importante en la respuesta al estrés (posiblemente por producir prostaglandinas), crecimiento, supervivencia, así como durante el desove dado su papel como precursor de prostaglandinas (Van der Kraak y Chang 1990; Mercure *et al.*, 1996; Sorbera *et al.*, 2001; Sargent *et al.*, 1989, 1995). En la dorada (*Sparus aurata*) se ha descrito un aumento significativo en el crecimiento y la supervivencia en organismos alimentados con rotíferos enriquecidos con ARA (Koven *et al.*, 2001, Bessonart *et al.*, 1999, Fountoulaki *et al.*, 2003). Por otra parte, otros autores reportan un aumento en la supervivencia del rodaballo (*Psetta maxima*) debido principalmente al enriquecimiento del alimento vivo con ARA más que con DHA (Bell *et al.*, 1985a; Castell *et al.*, 1994). Dada su importancia, es posible que estas funciones no se estén cumpliendo en los organismos cultivados debido a la baja concentración de este ácido graso. Si es así, esperaríamos que los organismos de cultivo presentaran problemas durante el desove y/o durante el periodo lecitotrófico. Otra explicación podría ser que los organismos cultivados presenten bajas concentraciones de ARA debido a que durante el cultivo, estos organismos están sometidos a condiciones estresantes y este



ácido graso se utilice como precursor de prostaglandinas que regulen la función inmune celular (Kinsella y Lokesh, 1990).

#### 9.4. Dinámica de lípidos durante el desarrollo.

Durante el desarrollo, se observó una disminución de TG a lo largo del desarrollo tanto en huevos provenientes de organismos silvestres como en los de cultivo. Como resultado de esta disminución se obtuvieron proporciones de TG en larvas recién eclosionadas similares (entre 9 y 10%) entre los dos orígenes (Figura 4). El catabolismo de acilglicéridos durante el desarrollo lecitotrófico está documentado ampliamente para peces marinos, donde se ha descrito para larvas de lisa (*Mugil cephalus*) (El Cafsi *et al.*, 2003), larvas del salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Cowey *et al.*, 1985), el arenque (*Clupea harengus*) (Fraser *et al.*, 1987), el róbalo (*Dicentrarchus labrax*) (Quessada y Pronneti 1987) y el bacalao (*Gadus morhua*) (Fraser *et al.*, 1988). Este consumo de TG continúa hasta que las demandas energéticas del crecimiento y metabolismo son satisfechas con fuentes externas. En contraste, Los fosfolípidos forman parte de las membranas celulares, pero algunos fosfolípidos, tal como la fosfatidilcolina, se utilizan como reserva de ácidos grasos para fines energéticos. Este es principalmente el caso de especies marinas, como el bacalao (*Gadus morhua*) y el lenguado (*Hippoglossus hippoglossus*), las cuales poseen reservas ricas en fosfolípidos y utilizan éstos como principal fuente de energía durante el desarrollo temprano (Fraser *et al.*, 1988; Rainuzzo *et al.*, 1992; Finn *et al.*, 1995b, 1995c; Ronnestad *et al.*, 1995). En pez blanco la proporción de fosfolípidos totales incremento de huevo a larva eclosionada. Es interesante destacar que en organismos

cultivados la proporción de TG disminuyó en mayor grado y la de PL aumentó en mayor grado que en los silvestres. Esto puede indicar una mayor transferencia de ácidos grasos desde los TG hacia los PL. Al analizar la concentración de ácidos grasos totales en las fracciones neutra y polar, podemos observar que el incremento entre huevo y larva en la fracción polar efectivamente fue mayor en cultivados (de 8.5 a 15.8 mg/g, es decir un 86%) que en silvestres (de 16 a 18.2 mg/g, es decir solo un 14%). Sin embargo la disminución en la fracción neutra fue inclusive menor en cultivados (de 16.5 a 7.6 mg/g, 54%) que en silvestres (de 20.5 a 6.5 mg/g, 68%). Esto implica en realidad una mayor movilización de ácidos grasos de la fracción neutra en huevos silvestres y por lo tanto no parece corresponder con una disminución menos acentuada de los TG en estos organismos. Por lo que en el caso de los silvestres, la menor disminución en los triglicéridos se ve compensada por la mayor disminución que se observa en la proporción de diglicéridos (DG) anterior a la eclosión. Lo anterior representa una mayor degradación de los TG hacia DG en el caso de organismos silvestres.

Derivado de lo anterior, no solo los ácidos grasos totales sino de manera particular, los ácidos grasos esenciales son incorporados preferencialmente en los fosfolípidos, en vez de en los acilglicéridos, para disminuir su uso como combustible durante el desarrollo (Sargent 1995; Sargent *et al.*, 1999), dado que se requieren mas enzimas para hidrolizar los ácidos grasos a partir de los fosfolípidos que a partir de los TG (Lehninger 1974). Como consecuencia, la hidrólisis y, por lo tanto la utilización de ácidos grasos a partir de fosfolípidos solamente procede cuando las reservas de acilglicéridos en el huevo disminuyen (Sargent 1995). En concordancia, las concentraciones de ácidos grasos fueron relativamente constantes en la fracción polar durante el desarrollo, y los ácidos grasos donde se observaron diferencias significativas

presentaron mayores niveles en larvas eclosionadas que en huevo. Como ejemplo y por su importancia, podemos considerar al DHA, para el cual se observó una acumulación de huevo a larva (de 29% a 36% en silvestres y de 34% a 40% en cultivadas), lo cual no solo demuestra su retención sino una incorporación selectiva de éste ácido graso en los fosfolípidos.

En relación a los ácidos grasos particulares, en los desoves de ambos orígenes se observa una disminución gradual en la concentración de la mayor parte en la fracción neutra a través del desarrollo embrionario, pero de manera más abrupta después de la eclosión. Se ha demostrado que el patrón de utilización de lípidos durante el desarrollo favorece a los lípidos neutros, particularmente a los TG y, por ende, a los ácidos grasos saturados y MUFA que forman parte de los TG (Vázquez *et al.* 1994; Haliloglu, *et al.*, 2003). Dichos ácidos grasos son utilizados como sustratos energéticos, y ésta utilización se incrementa en las primeras etapas de ayuno (Wu *et al.* 2001) e inmediatamente después de la eclosión. Esta marcada disminución también es reportada para otras especies dulceacuícolas como la carpa y la tilapia (Takeuchi y Watanabe, 1982; Satoh *et al.*, 1984 y Tandler *et al.*, 1989). Además de la disminución en la concentración de ácidos grasos saturados y MUFA, se observó una disminución de PUFA, siendo su utilización durante el desarrollo similar para ambos orígenes y disminuyendo después de la eclosión, lo cual indicaría que los PUFA también son utilizados como sustratos energéticos (Izquierdo 1996), para la síntesis de hormonas (Bell y Sargent 2003), o son transferidos hacia los fosfolípidos. Por ejemplo, se observa que la concentración de DHA o de PUFA en los lípidos neutros disminuyeron a la mitad durante el desarrollo, lo cual concuerda con un catabolismo en particular del DHA después de la eclosión en varias especies como el lenguado (*Hippoglossus hippoglossus*) (Ronnestad *et al.*, 1995),

róbalo (*Dicentrarchus labrax*), dorada (*Sparus aurata*) (Ronnestad *et al.*, 1994), bacalao (*Gadus morhua*) (Fraser *et al.*, 1988) y arenque (*Clupea harengus*) (Tocher *et al.*, 1985a). Sin embargo, la disminución de ácidos grasos saturados (en promedio 68% para silvestres y cultivados) y MUFA (en promedio 64% para silvestres y cultivados) fue mayor que para los PUFA, aunque dependió del origen de los organismos. De cualquier manera, estos resultados indican que durante el desarrollo larvario, los organismos utilizan una mayor proporción de saturados y MUFA, conservando los PUFA. El diferente grado de utilización entre ambos orígenes de ácidos grasos saturados (77.5 vs 58% para organismos silvestres y cultivados, respectivamente) y MUFA (72 vs 57% para organismos silvestres y cultivados, respectivamente), coincide con lo discutido previamente para la concentración de ácidos grasos totales de la fracción neutra.

El ARA, 18:0 y 18:1n-9 de los acilglicéridos no fueron utilizados en la misma proporción durante el desarrollo en larvas de origen silvestre o de cultivo, como lo indican las interacciones significativas que se detallaron en la sección de resultados. En particular para el caso del ARA, ha sido reportado que éste es preferencialmente conservado en otras especies como el arenque (*Clupea harengus*) (Folkvord *et al.*, 1996), la dorada (*Sparus aurata*) (Mourente y Odriozola, 1990) debido principalmente a su importante función en la respuesta al crecimiento, estrés y supervivencia (Bell y Sargent, 2003; Fountoulaki *et al.*, 2003). Sin embargo, es de interés que exista una acumulación diferencial en relación al origen del desove. Diferencias de acumulación de ARA entre organismos silvestres y cultivados también han sido reportadas por Silversand *et al.* (1996) para el lenguado (*Scophthalmus maximus*), donde se concluyó que una disminución podría representar su uso como sustrato energético, una deficiencia de este ácido en la dieta, e inclusive una transferencia desigual de este ácido hacia los

huevos por parte de la hembra. Ya sean diferencias en la dieta o en sí de la transferencia, los huevos de silvestres presentan mayores niveles de ARA, lo cual fue analizado en la sección anterior. Es posible que durante el desarrollo, los organismos cultivados conserven más este ácido graso, dado su reducida concentración inicial (1.9 mg/g en silvestres vs. 0.4 mg/g en cultivados). A pesar de que en larva recién eclosionada tanto la concentración como la proporción de ARA sigue siendo mayor en larvas silvestres, el incremento entre el estadio de huevo y el de larva recién eclosionada fue más pronunciado para organismos cultivados (58%) que silvestres (21%). Al parecer, en los organismos cultivados se presentó un patrón de conservación de niveles mínimos indispensables para ciertas funciones.

#### **9.5. Síntesis durante la lecitotrofia.**

Dado que durante el periodo de lecitotrofia los organismos no ingieren alimento, y en un intento por evaluar si existe o no síntesis en esta etapa, se realizaron correlaciones entre lo que se considero como ácidos grasos esenciales y sus precursores. Se observaron varias correlaciones significativas, como por ejemplo el ARA y el 18:2n-6 en organismos silvestres, pero estas correlaciones fueron positivas mientras que una síntesis de productos a partir de sus precursores estaría representada por correlaciones negativas (Sakuradani *et al.*, 1999). Por lo anterior, la correlación positiva entre ARA y el 18:2n-6 y que fue significativa al menos en organismos silvestres indica una acumulación paralela de estos ácidos grasos. Cuando se comparan los ácidos grasos individuales durante el desarrollo, se observa que el ARA tiene un comportamiento errático, ya sea expresado en concentración en la fracción polar o en porcentaje en la

neutra, lo cual posiblemente este indicando su uso en organismos de ambos orígenes. Es importante señalar que, respecto a la proporción, hay una mayor acumulación del precursor de ARA, el 18:2n-6 en los organismos cultivados después de la eclosión en comparación con los silvestres, lo cual puede indicar una deficiencia de ARA en organismos cultivados o una mayor utilización de ARA en estos organismos, posiblemente para contrarrestar el estrés durante el cultivo, aspectos que ya fueron previamente analizados.

Generalmente se considera que los peces dulceacuícolas son capaces de convertir ácidos grasos de 18 carbonos de las series n-6 y n-3 a sus homólogos de 20 carbonos, en este caso el 18:2n-6 a 20:4n-6 (ARA) o bien del 18:3n-3 a 20:5n3 (EPA) y de ahí a 22:6n-3 (DHA). Pero que dada la carencia de las enzimas involucradas en el proceso de síntesis (delta-5-desaturasa y delta-6-desaturasa) las especies marinas no pueden realizar esta conversión, o al menos no al grado de cubrir sus requerimientos. Sin embargo, existen muchas excepciones y los trabajos existentes solamente evalúan una fracción de especies. Es posible, además, que la capacidad de síntesis este más relacionada con la dieta (carnívoros vs. herbívoros) de las especies de ambos ambientes que con su capacidad enzimática (Sargent *et al.*, 1989). En el caso particular del pez blanco, la falta de correlaciones negativas entre precursores y productos parecería indicar que el pez blanco no es capaz de sintetizar HUFA en cantidades adecuadas a partir de precursores de 18 carbonos. En caso de los ácidos grasos de la serie n-6, podría ser el caso, dado que estaría reforzado por el exceso de 18:2n-6 y la posible deficiencia en ARA en organismos cultivados, así como por su retención particular en organismos de este origen, aspectos que fueron previamente analizados. Sin embargo, este planteamiento es menos concluyente para los ácidos grasos de la serie n-3 dado que por

un lado los niveles de 18:3n-3 no fueron detectados, los niveles de EPA de por sí son muy bajos lo cual al parecer fue por una síntesis a DHA desde el reproductor y finalmente porque los niveles de DHA son tan altos que no se requiere ninguna síntesis sino solo su transferencia desde lípidos neutros a polares.

#### **9.6. Influencia de dieta sobre larvas de cultivo.**

Una vez eclosionadas las larvas, estas fueron alimentadas de forma distinta en relación a su estadio de desarrollo (Tabla 4). El primer alimento consistió en rotíferos, posteriormente se paso a nauplios de *Artemia*, y por último, hojuelas comerciales (destete). Es necesario aclarar que solamente se prosiguió con el cultivo de larvas cultivadas después de la eclosión, dado que las larvas silvestres se agotaron durante los muestreos y debido a que se contó con una disponibilidad mucho menor de desoves silvestres. Al final del desarrollo larvario, se observó una disminución en la mayoría de las concentraciones de los ácidos grasos de la fracción neutra, pero particularmente PUFA y HUFA, lo cual indica que éstos están siendo utilizados como fuente de energía por las larvas o simplemente se agotan durante el proceso normal de recambio de moléculas y estructuras celulares y no son remplazados por la dieta o la síntesis. El EPA es uno de los ácidos grasos que fue preferentemente conservado a través del desarrollo larvario, con una disminución del 35% en la fracción neutra, pero un incremento del 36% en la fracción polar. En contraste otros HUFA, como el ARA y el DHA, que disminuyeron en un 47% y 75%, respectivamente en la fracción neutra y en un 77% y 76%, respectivamente en la fracción polar.

Estos resultados son analizados en relación a la composición de ácidos grasos de los alimentos proporcionados antes del destete cuya composición se muestra en la tabla IV. Cuando las larvas estaban en transición entre rotíferos y nauplios de *Artemia* (Tabla IV), una de las principales diferencias fue la ausencia de DHA en *Artemia*, pero alta proporción de EPA, mientras que los rotíferos contienen DHA aunque en una menor proporción de EPA. En consecuencia, podemos observar que la disminución más fuerte de DHA coincide con la falta de éste ácido graso en nauplios de *Artemia*. Asimismo, la concentración relativamente constante de EPA podría ser resultado de su alta proporción en nauplios de *Artemia*. Estos resultados son hasta cierto punto contradictorios con un estudio realizado en paralelo en el cual al menos durante la alimentación con rotíferos, la suplementación adicional de HUFA, en particular DHA, a través del enriquecimiento de rotíferos con emulsiones con alto contenido de HUFA no resultó en mayores valores de crecimiento y supervivencia (Valencia-Betancourt et al. 2004). Sin embargo, en ese trabajo aún no se tienen analizados los niveles de ácidos grasos en las larvas sometidas a los distintas dietas y además sería necesario evaluar la pertinencia del enriquecimiento a nivel de *Artemia* sobre el desempeño de las larvas. Por lo anterior, se requieren de mas estudios para elucidar la capacidad de síntesis de HUFA en estadio de larva así como de su importancia sobre el desempeño en el cultivo larvario.

De cualquier manera, es necesario resaltar que aun cuando se ofrecen altas proporciones de ácidos grasos saturados y MUFA, aparentemente estas no son suficientes para satisfacer la demanda energética, por lo que las larvas al parecer también están utilizando HUFA, aún si estos cumplen un papel como componentes estructurales durante estos estadios tempranos. Sin embargo y aún si el DHA es



consumido durante el desarrollo larvario, es importante señalar que su proporción es muy alta con respecto al ARA y EPA. Es posible que una vez cumplido su papel como componente del tejido nervioso y ocular, el resto se catabolice. Cabe mencionar que esta alta proporción pudo haber sido conservada desde el huevo recién fertilizado, por lo que quizás la mayor influencia respecto a este ácido este determinada por la alimentación de los reproductores en cautiverio durante la maduración gonádica. Cabe mencionar la alta acumulación de 18:3n-3, lo cual representa la incapacidad de esta especie para transformar este ácido a sus homólogos de 20 y 22 carbonos, lo cual no sólo es claro para especies marinas, tal como la dorada (*Sparus aurata*) (Rodríguez *et al.*, 1998) sino también para muchas especies dulceacuícolas durante la etapa larvaria (Awaïss *et al.*, 1996; Bell *et al.*, 2003; Sargent *et al.*, 1995; Tocher *et al.*, 2003; Peng *et al.* 2003). Esto nuevamente contrasta con el estudio de Valencia-Betancourt *et al.* (2004) en el cual larvas alimentadas con rotíferos que a su vez fueron alimentados con *Chlorella vulgaris* tienen un buen desempeño en cultivo a pesar de que los rotíferos presentaron niveles muy bajos de DHA pero relativamente altos de 18:3n-3 (Tabla 4). Si bien los autores concluyen que las larvas de pez blanco serían aparentemente capaces de sintetizar DHA a partir de 18:3n-3, se requiere de la verificación de los niveles de ácidos grasos a nivel de las larvas.

## 10. CONCLUSIONES

- La presencia de lo que se supone son ácidos grasos de 24 carbonos (24:5n-3 y 24:6n-3) en los tejidos de pez blanco, indica que al menos en la etapa adulta, esta especie es capaz de sintetizar DHA. Esto concuerda con la baja concentración de EPA encontrada en los tejidos, aún si el alimento (plancton) tenía EPA en abundancia. Como consecuencia, la alimentación de reproductores con alimento enriquecido con HUFA no parece ser necesaria.
- No se presentó una mayor concentración de ácidos grasos en la fracción neutra de la gónada de hembras, indicando que quizás aun no alcanzaban la madurez gonádica. Se sugiere realizar estudios de acumulación de reservas bioquímicas en diferentes estadios de maduración.
- La mayor concentración de ácidos grasos totales en desoves provenientes de organismos silvestres indica una mejor condición de estos sobre los organismos cultivados, y sugiere que la calidad de los huevos de silvestres es probablemente mayor.
- La acumulación de EPA en los desoves, en contraste con los tejidos, de ambos orígenes resalta el requerimiento de HUFA durante la embriogénesis.

- El alimento vivo utilizado para la alimentación de larvas tiene bajos niveles de HUFA, por lo que se sugiere realizar estudios sobre el efecto de enriquecimiento del alimento vivo con HUFA sobre el desempeño larvario.
- De acuerdo a los resultados de correlaciones realizadas durante el desarrollo embrionario-larvario, el pez blanco no sintetiza HUFA a partir de sus precursores de 18 carbonos. Dado los bajos niveles de ARA en los desoves provenientes de reproductores en cultivo, es posible que dichos desoves sean más susceptibles a factores estresantes, comunes durante el cultivo. Se sugiere realizar estudios de enriquecimiento de alimento vivo y pelletizado con distintas relaciones de ARA en relación al cultivo en general y durante situaciones de estrés.

## 11. REFERENCIAS

1. Ackman, R. G. 1989. Fatty acids. En: Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils. CRC Press Inc. 103-138.
2. Ackman, R. G., Kean-Howie, J. 1995. Fatty acids in aquaculture: are w3 fatty acids always important? En: Nutrition and utilization technology in aquaculture. Lim, C., Sessa, D. J. AOCA Press. 82-104.
3. Ackman, R.G. and H. Heras. 1997. Recent applications of Iatroscan TLC-FID methodology. En: New Technology and applications in lipid analysis. R.E. McDonald y M.M. Mossoba.: AOCS Press, Champaign, Illinois. 325-340.
4. Almansa, E., Pérez, M.J., Cejas, J.R., Badia, P., Villamandos, J.E., Lorenzo, A. 1999. Influence of broodstock gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. Aquaculture 170: 323-336.
5. Alvarez, R.A., Aguirre, G.D., Acland, G.M., Anderson, R.E. 1994. Docosapentaenoic acid is converted to docosahexaenoic acid in the retinas of normal and pred-affected miniature poodle dogs. Invest Ophthalmol Vis Sci. 35(2): 402-8.
6. Aras, N.M., Haliloglu, H.I., Ayic, Ö. 2003. Comparison of fatty acid profiles of different tissues of mature trout (*Salmo trutta labrax*, Pallas, 1811) caught from Kazandere Creek in the Coruh region, Erzurum, Turkey. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 27: 311-316.
7. Arzel, J., López, M.F.X., Métailler, R., Stéphan, G., Viau, M., Gandewer, G., Guillaume, J. 1994. Effect of dietary lipid on growth performance and body composition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater. Aquaculture 123: 361-375.
8. Awaïs, A., Kestemont, P., Micha, J.C. 1996. Fatty acid profile of two freshwater fish larvae (gudgeon and perch) reared with *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifer) and/or dry diet. Aquaculture Research. 651pp.
9. Barbour, C.D. 1973. The systematics and evolution of the genus *Chirostoma swainson* (Pisces: Atherinidae). Tulane Studies in Zoology and Botany 18: 97-141
10. Barriga-Tovar, E. 2000. Efectos de la temperatura del agua en la sobrevivencia y el crecimiento de pez blanco del lago de Pátzcuaro, *Chirostoma estor estor* (Pisces: Atherinidae). Tesis de Licenciatura, UMSNH. 62 pp.
11. Bell, J.G., & Sargent, J.R. 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. Aquaculture. 218: 491-499.

12. Bell, J.G., Farndale, B.M., Bruce, M.P., Navas, J.M., Carrillo, M. 1997. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*. 149: 107-119.
13. Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P., Sargent, J.R. 2001. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *ASNS*, 222-230.
14. Bell, J.G., McGhee, F., Campbell, P.J., Sargent, J.R. 2003. Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil "wash out". *Aquaculture* 218: 515-528.
15. Bell, M.V., Dick, J.R., Porter, E.A. 2003. In vivo assays of docosahexaenoic acid bioynthesis in fish. 26<sup>th</sup> Annual Larval Fish Conference, Bergen, Norway. 229-236.
16. Bell, M.V., Dick, J.R., Thrush, M., Navarro, J.C. 1996b. Decreased 20:4n-6/20:5n-3 ratio in sperm from cultured sea bass *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. *Aquaculture* 144: 189-199.
17. Bell, M.V., Henderson, R.J., Sargent, J.R. 1985b. Changes in the fatty acid composition of phospholipids from turbot (*Scophthalmus maximus*) in relation to dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies. *Comp. Biochem. Physiol.* 81B: 193-198.
18. Bell, M.V., Henderson, R.J., Sargent, J.R. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 83B (4): 711-719.
19. Bell, J.G., Dick, J.R., Sargent, J.R., y McVicar, A.H. 1992. dietary linoleic acid affects phospholipids fatty acid composition in heart and eicosanoid production by cardiomyocytes from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comp. Biochem. Physiol.* 103A: 337-342.
20. Bessonart, M., Izquierdo, M.S., Salhi, M., Hernandez-Cruz, C.M., Gonzalez M.M., Fernández-Palacios, H. 1999. Effect of dietary araquidonic acid levels on growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae. *Aquaculture* 179: 265-275.
21. Blaxter, J.H.S. 1969. Development: eggs and larvae. En: *Fish Physiology*. W.S. Hoar and D.J. Randall. Academic Press, Inc. New York. 178-252.
22. Blaxter, J.H.S., y Hempel, G. 1963. The influence of egg size on gerring larvae (*Clupea harengus*). *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 28: 211-240.

23. Bruce, M.P., Shields, R.J., Bell, M.V., Bromage, N.R. 1993. Lipid class and fatty acid composition of eggs of atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.) in relation to egg quality in captive broodstock. *Aquaculture and Fisheries Management* 24: 417-422.
24. Campos-Mendoza, A. 2000. Comparación del crecimiento de tres especies del género *Chirostoma* (Pises: Atherinidae), en cultivo experimental dentro de sistemas parciales de recirculación de agua. Tesis de Licenciatura, UMSNH. 70 pp.
25. Castell, J.D., Bell, J.G., Tocher, D.R., Sargent, J.R. 1994. Effects of purified diets containing different combinations of araquidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 128: 315-333.
26. Cengiz, E, I., Ünlü, E., Bashan, M. 2003. The effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition in the phospholipid fraction of *Gambusia affinis*. *Turk. J Biol.* 27: 145-148.
27. Chacón-Torres, A. and Rosas-Monge, C. A restoration plan for pez blanco de in Lake Patzcuaro, México. *American Fisheries Society Symposium* 15: 122-126. 1995.
28. Chang, M.R.C. & Roots, B.I. 1985. The effects of temperature and oxygen acclimation on phospholipids of goldfish (*Carassius auratus* L.) brain microsomes. *Neurochem. Res.* 10 (3): 355-375.
29. Chatzifotis, S., Muje, P., Pavlidis, M., Agren, J., Paalavuo, M., Mölsä, H. 2004. Evolution of tissue composition and serum metabolites during gonadal development in the common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture* 236: 557-573.
30. Copeman, L.A., Parrish, C.C., Brown J.A., Harel, M. 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic and araquidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. *Aquaculture* 210: 285-304.
31. Cowey, C.B., Bell, J.G., Knox, D., Fraser, A. y Youngson, A. 1985. Lipids and lipid antioxidant systems in developing eggs of salmon (*Salmo salar*). *Lipids* 20: 567-572.
32. Diario Oficial de la Federación. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Pesca (Semarnap) Primera Sección. 1998. p. 11-12
33. Driedzic, W.M., Selivonchick, D.P., Roots, B.I. 1976. Alk-1-enyl ether-containing lipids of goldfish (*Carassius auratus* L.) brain and temperature acclimation. *Comp. Biochem. Physiol.* 53B: 311-314.

34. Dwyer, K.S., Parrish, C.C., Brown, J.A. 2003. Lipid composition of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*) in relation to dietary lipid intake. *Marine Biology* 143: 659-667.
35. El Cafsi, M., Romdhane, M.S., Chaouch, A., Wasmoudi, W., Khériji, S., Chanussot, F., Chérif, A. 2003. Qualitative needs of lipids by mullet, *Mugil cephalus*, fry during freshwater acclimation. *Aquaculture* 225: 233-241.
36. Estevez, A., Ishikawa, M., Kanazawa, A. 1997. Effects of arachidonic acid on pigmentation and fatty acid composition of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture Research* 28: 279-289.
37. Falk-Petersen, S., Sargent, J.R., Fox, C., Falk-Petersen, I.B., Haug, T., Kjorsvic, E. 1989. Lipids in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs from planctonic samples in northern Norway. *Mar. Biol.* 101: 553-556.
38. Farkas, T., Kitajka, K., Fodor, E., Csengeri, I., Lahdes, E., Yeo, Y.K., Krasznai, Z., Halver, J.E. 2000. Docosahexaenoic acid-containing phospholipid molecular species in brains of vertebrates. *PNAS* 97: 6362-6366.
39. Farooqu, A.A., Horrocks, L.A. 2001. Plasmalogens, phospholipase A2, and docosahexaenoic acid turnover in brain tissue. *J Mol Neurosci.* (2-3): 263-272.
40. Ferdinandusse, S., Denis, S., Mooijer, A.W., Zhang, Z., Reddy, J.K., Spector, A.A., Wanders, J.A. 2001. Identification of the peroxisomal  $\beta$ -oxidation enzymes involved in the biosynthesis of docosahexaenoic acid. *Journal of Lipid Research.* 42: 1987-1995.
41. Finn, R. N. 1994. Physiological energetics of developing marine fish embryos and larvae. Dr. Scient. Thesis, University of Bergen, Norway.
42. Folkvord, A., Haaland, I.M., Nielsen, O.G., Johannessen, A. 1996. Fatty acid composition of herring (*Clupea harengus* L.) larvae of western Norway. *Sarsia* 80: 299-305.
43. Fountoulaki, E., Alexis, M.N., Nengas, I., Venou, B. 2003. Effects of dietary arachidonic acid (20:4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 225: 309-323.
44. Fraser, A. J., Tocher, D. R., Sargent, J. R. 1985, Thin – layer chromatography – flame ionization detection and the quantitation of marine neutral lipids and phospholipids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 88: 91-99.
45. Fraser, A.J. 1989. Triacylglycerol content as a condition index for fish, bivalve and crustacean larvae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46: 1868-1873.

46. Fraser, A.J., Gamble, J.C., Sargent, J.R., 1988. Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and larvae of cod (*Gadus morhua*) Mar. Biol. 99: 307-313.
47. Fraser, A.J., Sargent, J.R., Gamble, J.C., McLachlan. 1987. Lipid class and fatty acid composition as indicators of the nutritional condition of larval Atlantic herring. Am. Fish. Soc. Symp. 2: 129-143.
48. Furuita, H., Takeuchi, T., Uematsu, K. 1998. Effects of eicosapentenoic and docosahexaenoic acids on growth survival and brain development of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) Aquaculture 161: 269-279.
49. Grigorakis, K., Alexis, M.N., Anthony Taylor, K.D., Hole, M. 2002. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. International Journal of Food Science and Technology 37: 477-484.
50. Haliloglu, H.I., Aras, N.M., Yanik, T., Atamanalp, M., Kocaman, E.M. 2003. Investigation of changes in fatty acid composition at early development stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turk. J. Vet. Anim. Sci. 27: 1105-1109.
51. Harel, M., Gavasso, S., Leshin, J., Gubernatis, A., Place, A.R. 2001. The effect of tissue docosahexaenoic acid levels on hypersaline tolerance and leucocyte composition in striped bass (*Morone saxatilis*) larvae. Fish Physiology and Biochemistry 24: 113-123.
52. Harel, M., Koven, W., Lein, I., Bar, Y., Behrens, P., Stubblefield, J., Zohar, Y., Place, A.R. 2002. Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. Aquaculture 213: 347-362.
53. Harel, M., Ozkizilcik, S., Lund, E., Behrens, P., Place, A. R. 1999. Enhanced absorption of docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) in *Artemia* nauplii using a dietary combination of DHA-rich phospholipids and DHA-sodium salts. Comp. Biochem. Physiol. Part B, 124: 169-176.
54. Hazel, J.R., Williams, E.E., Livermore, R., Mazingo N. 1991. Thermal adaptation in biological membranes: functional significance of changes in phospholipid molecular species composition. Lipids. 26 (4): 277-282.
55. Henderson, R.J., Tocher, D.R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. Prog. Lipid. Res. 26: 281-347.
56. Henderson, R.J, Sargent, J.R. and Hopkins, C.C.E. 1984. Changes in the content and fatty acid composition of lipid in an isolated population of the capelin *Mallotus villosus* during sexual maturation and spawning. Marine Biology, 78: 255-63.



57. Horváth, L., Tamás, G., Tölg, I. 1984. Special Methods In Pond Fish Husbandry. Akadémiai Kiadó, Budapest, Halver Corporation, Seattle. 147 pp.
58. Izquierdo, M. S. 1996. Essential fatty acids requirements of cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*. 2: 183-191.
59. Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H., Tacon, A.G.J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197: 25-42.
60. Izquierdo, M.S., Watanabe, T., Takeuchi, T., Arakawa, T., Kitajima, C. 1989a. Requirement of larval red sea bream *Pagrus major* for essential fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 55: 859-867.
61. Kanazawa, A. 1997. Effects of docosahexanoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. *Aquaculture* 155: 129-134.
62. Kanazawa, A., Teshima, S., Sakamoto, M., Awal, M.A. 1980. Requirement of *Tilapia zilli* for essential fatty acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46: 1353-1356.
63. Khériji, S., El Cafsi, M., Masmoudi, W., Romdhane, M.S. 2000. Effects de la salinité et de la température du milieu sur le degré de saturation des acides gras et sur les différentes catégories lipidiques des alevines de *Mugil cephalus*. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et de Technologie de la Mer*. (In press).
64. Khériji, S., El Cafsi, M., Masmoudi, W., Castell, J.D., Romdhane, M.S. 2003. Salinity and temperature effects on the lipid composition of Mullet Sea fry (*Mugil cephalus*, Linne, 1758). *Aquaculture International* 11: 571-582.
65. Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P., Tandler, A. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival, and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 193: 107-122.
66. Koven, W.M., Kissil, G. Wm., Tandler, A. 1989. Lipid and n-3 requirement of *Sparus aurata* larvae during starvation and feeding. *Aquaculture* 79: 185-191.
67. Lavens, P. y Sorgeloos, P. 1991. Variation in egg and larval quality in various fish and crustacean species. In: Larvi'91, Fish and Crustacean Larviculture Symposium, P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jaspers y F. Ollevier (eds). European Aquaculture Society, Gent. pp. 221-226.
68. Lee, S.M., Lee, J.H., Kim, K.D. 2003. Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture* 225: 269-281.

69. Lee, Y.K., Tan, H.M., Low, C.S. 1989. Effect of salinity of medium on cellular fatty acid composition of marine alga *Prorhodidium cruentum* (Rhodophyceae). *J. Appl. Phycol.* 1: 19-23.
70. Léger, P., Bengtson, D.A., Simpson, K.L., Sorgeloos, P. 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 24: 521-623.
71. Lehninger, A.L. 1975. *Biochemistry*, 2nd edition. Worth Publishers Inc., New York, NY. 1104 p.
72. Leray, C., Chapelle, S., Duportail, G., Florentz. 1984. Changes in fluidity and 22:6n-3 content in phospholipids of trout intestinal brush-border membrane as related to environmental salinity. *Biochim. Biophys. Acta* 778: 233-238.
73. Logue, J.A., De Vries, A.L., Fodor, E., Cossins, A.R. 2000. Lipid compositional correlates of temperature-adaptive interspecific differences in membrane physical structure. *Journal of Experimental Biology* 203: 2105-2115.
74. Luthria, D.L., Mohammed, B.S., Sprecher, H. 1996. Regulation of the biosynthesis of 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid. *J Biol Chem.* 271(27): 16020-5.
75. Martínez-Palacios, C. A., Campos, A., Rendon, M. B., Rios, M. G, Chacón-Torres, A., and Rosas-Monge, C. 1998. Avance en el cultivo de larvario del pescado blanco del lago de Patzcuaro (*Chirostoma estor estor*) en condiciones de manejo intensivo de circuito cerrado. Tuxpan, Veracruz. *Memorias del VI Congreso Nacional de Ictiología*, p. 199.
76. McFarlane, R.B., Norton, E.C. 1999. Nutricional dynamics during embryonic development in the viviparous genus *Sebastes* and their application to the assessment of reproductive success. *Fish Bull* 97: 273-281.
77. Montero, D., Robaina, L.E., Socorro, J., Vergara, J.M., Tort, L., Izquierdo, M.S. 2001. Alteration of liver and muscle fatty acid composition in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles held at high stocking density and feed an essential fatty acid deficient diet. *Fish Physiology and Biochemistry* 24: 63-72.
78. Moore, S.A. 2001. Polyunsaturated Fatty Acid Synthesis and Release by Brain-Derived Cells in Vitro. *Journal of Molecular Neuroscience.* 16 (2-3): 195-200.
79. Moore, S. A., Hurt, E., Yoder, E., Sprecher, H., & Spector, A. A. 1995. Docosahexaenoic acid synthesis in human skin fibroblasts involves peroxisomal retroconversion of tetracosahexaenoic acid. *J Lipid Res.* 36 (11): 2433-2443.
80. Morelos-López, M.G., V. Segura-García, and A. Chacón-Torres. 1994. Desarrollo embrionario del pez blanco de Patzcuaro *Chirostoma estor* Jordan 1873 (Pisces: Atherinidae). *Zoologia Informa* 27: 22-46.

81. Morris, R.J., Lockwood, P.M., Dawson, M.E. 1982. An effect of acclimation salinity on the fatty acid composition of the gill phospholipids and water flux of the amphipod crustacean *Gammarus duebeni*. *Comp. Biochem. Physiol.* 72A: 497-503.
82. Mourente, G., Rodriguez, A., Tocher, D.R., Sargent, J.R. 1991. Specific accumulation of docosahexaenoic acid in brain lipids during development of juvenile turbot *S. Maximus* L. *Lipids.* 26: 871-877.
83. Mourente, G. & Tocher, D. T. 1992. Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22: 6n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.) *Aquaculture.* 105: 363-371.
84. Mourente, G. Rodriguez, A., Tocher, D.R., Sargent, J.R. 1993. Effects of dietary docosahexaenoic acid on lipid and fatty acid composition and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. *Aquaculture.* 112: 79-98.
85. Mourente, G., Odriozola, J.M. 1990. Effect of broodstock diets on total lipids and fatty acid composition of larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) during yolk-sac stage. *Fish Physiology and Biochemistry.* Vol. 8 No. 2, pp, 103-110.
86. Navarro, J.C., Amat, F y Sargent, J.R. 1992. Fatty acid composition of coastal and inland *Artemia* sp. populations from Spain. *Aquaculture* 102: 219-230.
87. Navarro, J.C., Batty, R.S., Bell, M.V. y Sargent, J.R. 1993b. Effects of two *Artemia* diets with different contents of polyunsaturated fatty acids on the lipid composition of larvae of Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Journal of fish biology* 43: 503-515.
88. Ng, W. K., Lim, P.K., Boey, P.L. 2003. Dietary lipid and palm oil source affects growth, fatty acid composition and muscle  $\alpha$ -tocopherol concentration of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 215: 229-243.
89. Oseguera, F.L., 1990. Caracterización morfológica de los estadios embrionarios y juveniles de *Chirostoma grandocule* Steindachner y la verificación del híbrido con *Chirostoma attenuatum* Meck (1902) del Lago de Pátzcuaro, Mich., México. Tesis Profesional. Escuela de Biología. UMSNH. México.
90. Owen, J.M., Adron, J.W., Middleton, C., Cowey, C.B. 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot, *Scophthalmus maximus* L., and rainbow trout, *Salmo gardnieri* Rich. *Lipids.* 10: 528-531.
91. Pagliarani, A., Pirini, M., Trigari, G., Ventrella, V. 1986. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 83: 277-282.

92. Palacios, E., Racotta, I. S., Marty, Y., Samain, J. F. 2001. Lipid composition during embryogenesis and early larval development in shrimp (*Penaeus vannamei*). Larvii 2001. Ghent, Belgium.
93. Peng, J., Larondelle, Y., Pham, D., Ackman, R.G., Rollin, X. 2003. Polyunsaturated fatty acid profile of whole body phospholipids and triacylglycerols in anadromous and landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B (134): 335-348.
94. Quessada, J. y Pronneti, J.M. 1987. État et utilisation des réserves endogènes au cours des périodes embryonnaires et larvaires de trois poissons : le loup, le sar et la daurade. Océanis 13: 449-459.
95. Rainuzzo, J. R. 1993. Lipids in early stages of marine fish. Dr. Scient. Thesis, University of Trondheim, Norway.
96. Rainuzzo, J.R., K.I. Reitan, and Y. Olsen. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. Aquaculture 155: 103-115.
97. Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Jorgensen, L. 1992. Comparative study on the fatty acid and lipid composition of four marine fish larvae. Comp. Biochem. Physiol., 103B: 21-26.
98. Rodriguez, C., Cejas, J.R., Martín, M.V., Badia, 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.
99. Rojas, P., Mares, G. 1988. Cultivo de pescado blanco (*Chirostoma estor*). Instituto Nacional de la Pesca. Centro Regional de Investigación Pesquera. Informe de labores. Pátzcuaro, Michoacán. 98 p.
100. Ronnestad, I., Finn, R.N., Lein, I., Lie, O. 1995. Compartmental changes in the contents of total lipid, lipid classes and their associated fatty acids in developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L). Aquaculture Nutrition. 1: 119-130.
101. Ronnestad, I., Koven, W.M., Tandell, A., Harel, M., Fyhn, H.J. 1994. Energy metabolism during development of eggs and larvae of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). Mar. Biol. 120: 187-196.
102. Rosa, R., Marques, A.M., Nunes, M.L., Bandarra, N., Reis, C.S. 2004. Spatial-temporal changes in dimethyl acetal (octadecanal) levels of *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda): relation to feeding ecology. Scientia Marina 68 (2): 227-236.
103. Rosas, M.M. 1970. Pescado blanco *Chirostoma estor estor*. Secretaria de Industria y comercio. Comision Nacional de Pesca, México. 29 pp.

104. Rosas-Monge, C. 1994. Cultivo experimental de crías de pez blanco *Chirostoma estor estor* Jordan 1873 (Pisces: Atherinidae), en jaulas de cultivo y bajo régimen alimenticio de cinco dietas. Tesis de Licenciatura, UMSNH. 168 pp.
105. Sargent, J.R. 1995. Origins and function of egg lipids: nutritional implications. In: Broodstock management and egg and larval quality. N.R. Bromage and R.J. Robert, G.B.: Blackwell Science, Cambridge. p. 353-372.
106. Sargent, J.R., Bell, M.V., Tocher, D.R. 1993. Docosahexaenoic acid and the development of brain and retina in marine fish. En: Omega-3 Fatty Acids: Metabolism and Biological Effects. Drevon CA, Baksaas I, Krokan H.E. Basel: Birkhauser Verlag. 139-40.
107. Sargent, J.R., Henderson, R.J., Tocher, D.R. 1989. The lipids. En: Fish Nutrition. 2nd. Halver, J.E, Academic Press. San Diego, CA. pp. 153-218.
108. Sargent, J.R., L.A. Mc Evoy, A. Estevez, J.G. Bell, M.V. Bell, R.J. Henderson, and D.R. Tocher. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179: 217-229.
109. Sargent, J.R., L.A. McEvoy, and J.G. Bell. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155: 117-127.
110. Sargent, J.R., McIntosh, R.M., Bauermeister, A.E.M and Blaxter, J.H.S. 1979. Assimilation of the wax esters of marine zooplankton by herring (*Clupea harengus*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Marine Biology* 51: 203-7.
111. Satoh, S., Takeuchi, T y Watanabe, T. 1984. Effects of starvation and enviromental temperature on proximate and fatty acid compositions of *Tilapia nilotica*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 50: 79-84.
112. Segura-García, M.V. 1997. Ecología reproductiva del pez blanco *Chirostoma estor estor* Jordan 1873 (Pisces: Atherinidae) del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Tesis de Maestría. ENCB-IPN. 114 pp.
113. Shearer, K.D. 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 119: 63-88.
114. Sheikh-Eldin, M., De Silva, S.S., Anderson, T.A., Gooley, G. 1996. Comparison of the fatty acid composition of body muscle, liver, mature oocytes and diets of wild and captive Macquarie perch, *Macquaria australassica*, broodfish. *Aquaculture* 144: 201-216.

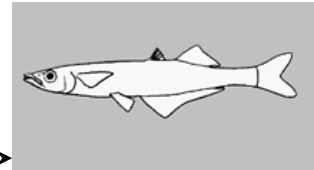
115. Shields, R.J., Bell, J.G., Luizi, L.S., Gara, B., Bromage, N.R., Sargent, J.R. 1999. Natural copepods are superior to enriched *Artemia* nauplii as feed for halibut larvae (*Hipoglossus hipoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: relation to dietary essential fatty acids. *J. Nutr.* 129: 1186-1194.
116. Silversand, C., Norberg, B., Haux, C. 1996. Fatty acid composition of ovulated eggs from wild and cultured turbot (*Scophthalmus maximus*) in relation to yolk and oil globule lipids. *Marine Biology* 125: 269-278.
117. Solórzano, P.A. 1963. Algunos aspectos biológicos del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich. (*Chirostoma estor* Jordan, 1879). Secretaría de Industria y Comercio. Dirección General de Pesca e Industrias Conexas. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico-Pesqueras. México. 15 pp.
118. Sorbera, L.A., Asturiano, J.F., Carrillo, M., Zanuy, S. 2001. Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on Oocyte maturation in a marine teleost, the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biology of reproduction* 64: 382-389.
119. Soudant, P., Moal, J., Marty, Y., Samain, J. F. 1997a. Composition of polar lipid classes in male gonads of *Pecten maximus* (L). Effect of nutrition. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 215: 103-114.
120. Soudant, P., Moal, J., Marty, Y., Samain, J.F. 1996. Impact of the quality of the fatty acids on metabolism and the composition of polar lipid classes in female gonads of *Pecten maximus* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 205: 149-163.
121. Stacey, N.E., Goetz, F.W. 1982. Role of prostaglandins in fish reproduction. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 92-98.
122. Takeuchi, T., Watanabe, T., Nose, T. 1979. Requirement for essential fatty acids of Chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in fresh water environment. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 45(10): 1319-1323.
123. Takeuchi, T. y Watanabe, T. 1982. The effect of starvation and environmental temperature on proximate and fatty acid compositions of carp and rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi* 48: 1307-1316.
124. Tanaka, T., Iwawaki, D., Sakamoto, M., Takai, Y., Morishige, J., Murakami, K., Satouchi, K. 2003. Mechanisms of accumulation of arachidonate in phosphatidylinositol in *yellowtail*. *Eur. J. Biochem.* 270: 1466-1473.
125. Tandler, A., Watanabe, T., Satoh, S., Fukusho, K. 1989. The effect of food deprivation on the fatty acid and lipid profile of red sea bream larvae (*Pagrus major*). *Br. J. Nutr.* 62: 349-361.

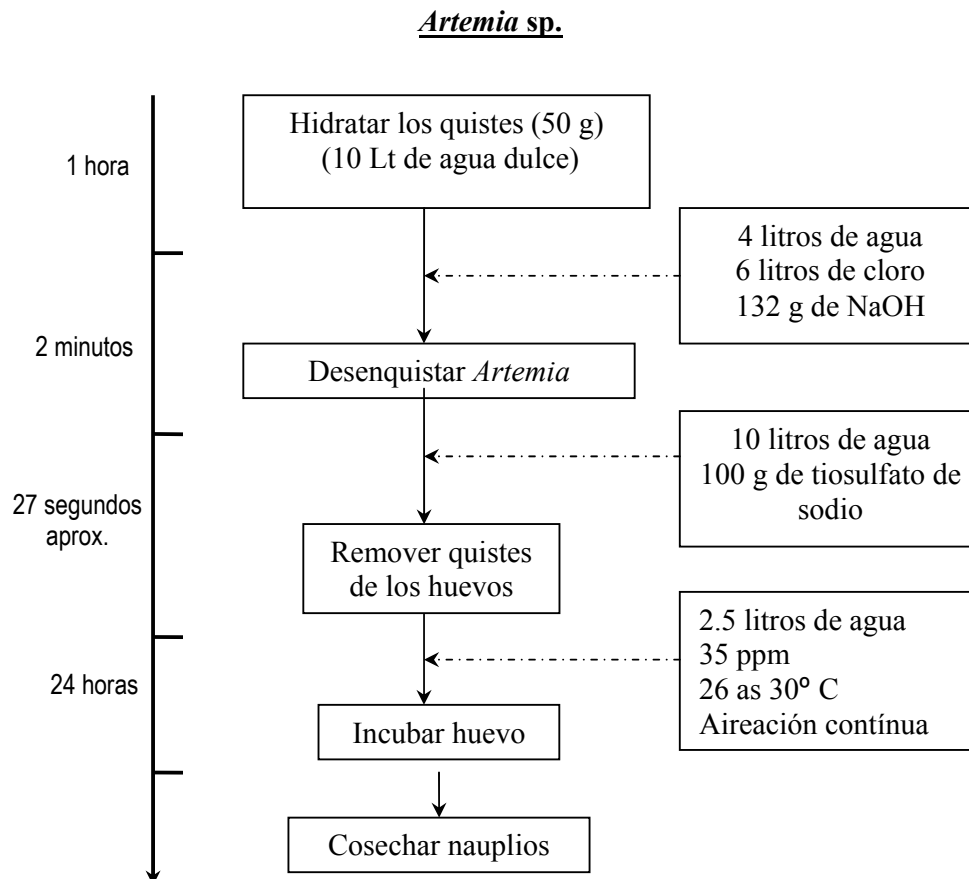
126. Thillart, G. & van den Bruin, G. 1981. Influence of environmental temperature on mitochondrial membranes Biochem. Biophys. Acta. 640: 439-447.
127. Tocher, D.R., Agaba, M., Hastings, N., Bell, J.G., Dick, J.R., Teale, A.J. 2002. Nutritional regulation of hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition in zebrafish (*Danio rerio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Physiology and Biochemistry 24: 309-320.
128. Tocher, D.R., Agaba, M., Hastings, N., Teale, A.J. 2003. Biochemical and molecular studies of the polyunsaturated fatty acid desaturation pathway in fish. 26<sup>th</sup> Annual Larval Fish Conference, Bergen, Norway. 211-225.
129. Tocher, D.R., Fraser, A.J., Sargent, J.R., Gamble, J.C. 1985a. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipid during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus* L.). Lipids 20: 69-74.
130. Tocher, D.R., Mourente, G., Sargent, J.R. 1997. The use of silages prepared from fish neural tissues as enrichers for rotifers (*Brachionus plicatilis*) and *Artemia* in the nutrition of larval marine fish. Aquaculture 148: 2-3
131. Tocher, D.R., Sargent, J.R. 1990. Incorporation into phospholipid classes and metabolism via desaturation and elongation of various <sup>14</sup>C-labelled (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids in trout astrocytes in primary culture. Journal of Neurochemistry 54 (6): 2118-2124.
132. Tocher, D.R., Castell, J.D., Dick, J.R y Sargent, J.R. 1995. Effects of salinity on the fatty acid composition of total lipid and individual glycerophospholipid classes of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) cells in culture. Fish Physiology and Biochemistry 14: 125-137.
133. Van der Kraak, G. y Chang, J.P. 1990. Arachidonic acid stimulates steroidogenesis in goldfish preovulatory ovarian follicles. Gen. Comp. Endocrinol. 77 (2): 221-228.
134. Vazquez, R., Gonzalez, S., Rodriguez, A., Mourente, G. 1994. Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk-sac stage larvae and first-feeding larvae of Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). Aquaculture 119: 273-286.
135. Voss, A., Reinhart, M., Sankarappa, S., Sprecher, H. 1991. The metabolism of 7, 10, 13, 16, 19-docosapentanoic acid to 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexanoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase. J. Biol. Chem. 226: 19995-20000.
136. Watanabe, T. 1982. Lipid nutrition in fish. Comp. Biochem. Physiol. 73b: 3-15.
137. Watanabe, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. Journal of the World Aquaculture Society 24 (22): 152-161.

138. Watanabe, T., 1985. Importance of the study of broodstock nutrition for further developments of aquaculture. In: C. B. Cowey, A. M. Mackie and J. G. Bell (Editors), Nutrition and feeding in fish. Academic Press, London, pp. 395-414.
139. Watanabe, T., Arakawa, T., Takeuchi, T., Satoh, S. 1989. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficiency in juvenile striped jack *Pseudocaranx dentex*. Nippon Suisan Gakkaishi, 55(11): 1989-1995.
140. Watanabe, T., Takeuchi, T., Saito, M., Nishimura, K. 1984. Effect of low protein-high calory or essential fatty acid deficient diet on reproduction of rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish. 51: 1511-1521.
141. White, B. N., Lavenberg, R. J., and McGowen, G. E. 1983. Atheriniformes: Development and relationships. 355-362. 1993. Ontogeny and systematics of fishes: An international symposium, La Jolla, California. August 15-18.
142. Whitney, J.O. 1974. The effect of external salinity upon lipid synthesis in the blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun) and in the spider crab *Libinia emarginata* (Leech). Comp. Biochem. Physiol. 49: 433-440.
143. Williard, D.E., Harmon, S.D., Kaduce, T.L., Preuss, M., Moore, S.A., Robbins, M.E., Spector, A.A. 2001. Docosahexaenoic acid synthesis from n-3 polyunsaturated fatty acids in differentiated rat brain astrocytes. J Lipid Res. 42(9): 1368-76.
144. Wodtke, E. 1978. Lipid adaptation in liver mitochondrial membranes of carp acclimated to different environmental temperatures: phospholipids composition, fatty acid pattern and cholesterol content. Biochim. Biophys. Acta. 529: 280-291.
145. Wu, F.C., Ting, Y.Y., Chen, H.Y. 2001. Docosahexaenoic acid is superior to eicosapentaenoic acid as the essential fatty acid for growth of Grouper, *Epinephelus malabaricus*. Amer. Soc. Nutr. Sci. 72-79.
146. Xu, X., Ji, W. 1993. The nutritional value of dietary n-3 and n-6 fatty acids for the Chinese prawn (*Penaeus chinensis*) Aquaculture 118: 277-285.
147. Yamada, K., Kobayashi, K., Yone, Y. 1980. Conversion of linolenic acid to w3 highly unsaturated fatty acids in marine fishes and rainbow trout. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 46: 1231-1233.

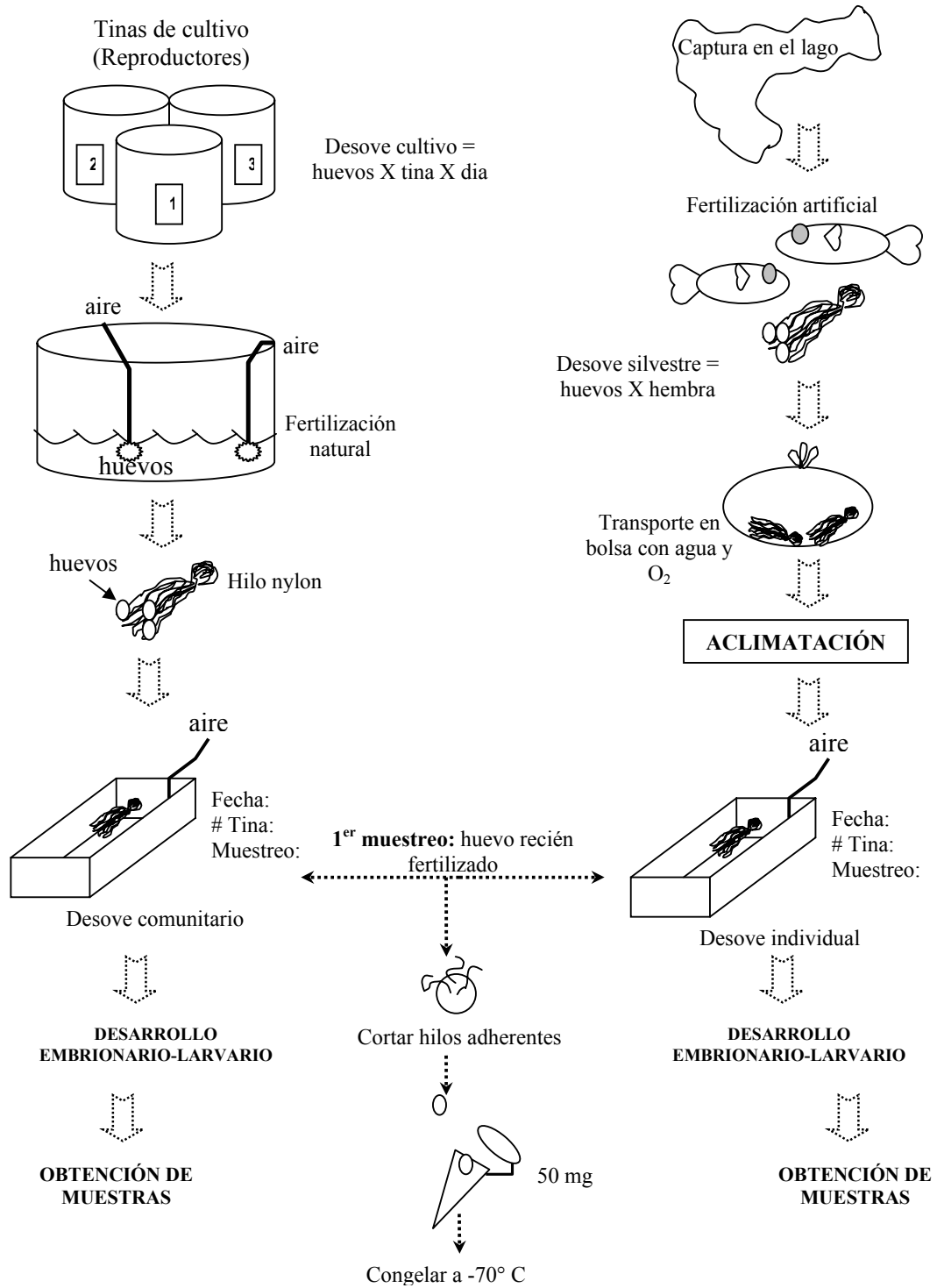


## **12. ANEXOS**

**Anexo A. Ubicación taxonómica del pez blanco (*Chirostoma estor*) Jordan, 1880.****Reino:** Animalia**Phylum:** Chordata**Subphylum:** Vertebrata**Superclase:** Osteichthyes**Clase:** Actinopterygii (peces con aletas radiadas)**Subclase:** Neopterygii**Infraclase:** Teleostei**Superorden:** Acanthopterygii**Orden:** Atheriniformes**Familia:** Atherinopsidae**Subfamilia:** Menidiinae**Género:** *Chirostoma* (Swainson, 1839)**Especie:** *Chirostoma estor* (Jordan, 1880)**Especies dentro de la familia:** de 150 a 160 (Barbour, 1973)**Hábitat de las especies:** marino, estuarino y dulceacuícola**Especies y subespecies dentro del Género:** 18 y 6 respectivamente (Barbour, 1973)**Especies en México:** 19 especies habitan los lagos de la parte central del país (Mayden *et al.*, 1992)***Chirostoma estor estor*****Medioambiente:** bentopelágico; agua dulce**Clima:** tropical; 21°N - 19°N**Importancia:** pesquerías: alto valor comercial (200 pesos / Kg)**Resistencia:** Media, población duplicada en un tiempo mínimo de 1.4 - 4.4 años (K=0.19 - 0.29)**Longitud máxima registrada:** 42 cm.**Peso máximo registrado:** 540 g

**Anexo B. Cultivo de alimento vivo (*Artemia sp.*)**

**Anexo C. Cultivo larvario de pez blanco**



## **ANEXO D. Análisis de ácidos grasos.**

### **1. Separación de las fracciones lipídicas en las muestras.**

Se obtuvo un peso de 0.5 g para las muestras del segundo experimento (ontogenia) así como para los alimentos (*Artemia sp.* y rotíferos) a excepción del alimento peletizado del cual se utilizaron muestras de 1g, de la misma forma que para las muestras del primer experimento (tejidos de reproductores). Estas fueron colocadas en 6 mL de solución Folch conformada por una mezcla de cloroformo: metanol 2:1 (v/v) en viales de vidrio de 8 mL. A cada una de las muestras se les agregaron 10  $\mu$ L de BHT (butilhidroxitolueno) como antioxidante a una concentración de 0.5 mg/mL y 10  $\mu$ L del estándar interno 23:0 con una concentración de 2 mg/mL. Las muestras fueron colocadas a 20° C durante 24 horas. Posteriormente se procedió a la homogenización de las muestras por medio de un homogenizador de vidrio. La muestra homogenizada se dividió en dos partes para almacenar una de ellas como respaldo (“backup”) y la otra parte se utilizó para obtener las fracciones de lípidos neutros (LN) y lípidos polares (LP). La separación de estas fracciones se realizó por medio de microcolumnas preparadas con pipetas Pasteur empaquetadas con fibra de vidrio y sílice hidratado al 6%. El procedimiento se llevó de la siguiente manera:

- a) Los 3 mL de la muestra se evaporaron con nitrógeno (N<sub>2</sub>) hasta obtener un volumen de  $\pm$  0.5 mL, manteniendo la temperatura de la muestra por debajo de 15-20°C. Una vez evaporada la muestra se colocó dentro de la

microcolumna, el vial se enjuagó con 0.5 mL de solución Folch y se agregó a la misma microcolumna.

- b) A continuación se añadieron 10 mL de cloroformo:metanol (98:2 v/v) a la microcolumna para eluir los lípidos neutros presentes en la muestra. La solución se recuperó en tubos de vidrio de 15 mL con tapa de teflón los cuales fueron almacenados a  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- c) Posteriormente se agregaron 15 mL de metanol a la columna para eluir ahora los lípidos polares presentes en la misma muestra, una vez eluidos y recuperados los 15 mL de metanol, se les adicionó 10  $\mu\text{l}$  de BHT y 10  $\mu\text{l}$  de 23:0, ya que los anteriormente adicionados se eluyeron junto con la fracción neutra. El volumen fue recuperado en tubos de vidrio de 20 mL con tapa de teflón que finalmente se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Cada una de las fracciones (neutra y polar) fue separada en dos partes iguales. Una de ellas se utilizó en la determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases y el resto se conservó para la cuantificación de las clases de lípidos por cromatografía en capa fina con detección por ionización en flama (Iatroscan TCL/FID).

## 2. Derivatización de ácidos grasos.

La mitad de las fracciones de lípidos neutros (5 mL) y polares (7.5 mL) previamente separadas para la derivatización se evaporaron a sequedad por medio de una centrífuga-evaporador, en caso de ser necesario para lograr evaporar completamente la muestra se utilizó nitrógeno ( $N_2$ ). Una vez conseguida la evaporación total se le agregó a cada muestra 2.5 mL de metanol:ácido clorhídrico (95:5) y se colocaron en bloques de calentamiento a  $85^\circ C$  por 2.5 horas. Trascurrido este tiempo se retiraron de los bloques y se dejaron enfriar. Para lograr recuperar los metil-ésteres (FAME) de las muestras se agregó 1 mL de hexano y se procedió a centrifugar las muestras a 2000 rpm por 5 minutos a  $4^\circ C$  para separar la muestra en dos fases (metanol:HCl y hexano), de esta manera se puede desechar la parte inferior de la muestra (metanol:HCl) dejando únicamente el hexano conteniendo los metil-ésteres de la muestra. Finalmente para lograr eliminar los posibles residuos y recuperar únicamente los FAME se realizaron dos “lavados” agregando 2 mL de  $H_2O$  destilada, después de agitar los tubos se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 minutos a  $4^\circ C$  para su separación en dos fases.

La fase inferior (agua + restos de carbohidratos) se separó de la fase superior (hexano + FAME), eliminando la primera con pipetas Pasteur y agregando agua nuevamente, repitiendo el procedimiento de lavado hasta lograr el congelamiento de la fase acuosa a  $-20^\circ C$ . Una vez congelada el agua se recuperó la fase de hexano con los FAME y se colocaron en viales ámbar de 1 mL con tapa de teflón los cuales se almacenaron a  $-20^\circ C$ . Los FAME así obtenidos fueron analizados por un cromatógrafo de gases HPG1800B. Se utilizó una columna capilar de sílica fundida de 30m longitud x 0.25  $\mu m$  (espesor de película) x 0.25mm (diámetro interno), fase de poli-etilen-glicol con helio

como gas acarreador a un flujo de 0.9 ml/min, una rampa de temperatura de 110-220° C, y detección por espectrometro de masas. La identificación de los FAME se realizó comparando el tiempo de retención de la muestra contra el de los estándares (SIGMA). La concentración se calculó con base al área del estándar interno 23:0 recuperado y el peso de la muestra, aplicando un factor de corrección con relación al número de carbonos y el número de dobles enlaces de cada ácido graso.