



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Programa de Magíster en Ciencias Mención Pesquerías

**Uso de biomarcadores lipídicos en el estudio de la dinámica
espacial de Merluza austral (*Merluccius australis*) en la Patagonia**



Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Mención Pesquerías

GABRIELA SOLEDAD MEDINA URRUTIA
CONCEPCIÓN-CHILE
2013

Profesor Guía: Leonardo Castro Cifuentes
Profesor Co-Guía: Silvio Pantoja Gutiérrez
Departamento de Oceanografía
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

La presente tesis se realizó en el Departamento de Oceanografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción y ha sido aprobada por la siguiente Comisión Evaluadora:

Profesor Guía

Dr. Leonardo Castro Cifuentes
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción

Profesor Co-Guía



Dr. Silvio Pantoja Gutiérrez
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción

Comisión Evaluadora

Dr. Leonardo Castro Cifuentes
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción

Dr. Silvio Pantoja Gutiérrez
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción

Dr. Luis Cubillos Santander
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción

Dr. Humberto González Estay
Instituto de Ciencias Marinas y Limnológicas
Universidad Austral de Chile

Director de Programa

Dr. Leonardo Castro Cifuentes
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción





Dedicada a mi Amado Esposo, Hija, Familia y a tí Juany

AGRADECIMIENTOS

Ante todo a Jehová Dios por su bendición y salud para finalizar este ciclo.

A mi profesor Guía Dr. Leonardo Castro, por su gran apoyo y contribución en mi formación académica y científica, y valiosos consejos durante este proceso. Gracias profe Leo!!

A mi profesor Co-Guía Dr. Silvio Pantoja, por su apoyo en el área de la química.

A mi esposo Israel, por tu apoyo, ayuda y paciencia desde el primer día que ingrese al Magíster, en esas largas noches de estudio que hoy tienen fruto de todo esfuerzo junto a mi pequeña hija Grace que viene en camino.

A mi Familia, Jaime y Eva mis padres por el apoyo incondicional, Andrea, Sofy y Juany que siempre estarás en mi corazón. A mi amiga Dany por su apoyo.

A mis compañeras (os) del LOPEL, Pamela Barrientos, Sandra Montecinos, María Inés Muñoz, María Jose Cuevas y Samuel Soto, por su ayuda y valiosa amistad. Agradecer a mis compañeros del Laboratorio de Geoquímica (GOM) quienes fueron gran ayuda en el desarrollo de la metodología a Lilian Núñez, Víctor Acuña y Alejandro Ávila.

A mis amigas y quienes conocí y que fueron mi apoyo continuo en este gran camino que con mucho entusiasmo realicé Anita Jara, Cecilia Briceño, Felipe Aguilera y a la Dr. Lorena Rebolledo.

A mis compañeros de Magíster, Alfredo Rodríguez, Javier Porobic y Kelly Acevedo (Q.E.P.D) por esos eternos días, tardes y noches de estudio.

Y a todos quienes estuvieron a mi lado apoyándome con su amistad y distracción en los momentos de estrés.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

A la Dirección Postgrado de la Universidad de Concepción y al Financiamiento del Proyecto Basal de CONICYT Copas-Sur Austral.



INDICE

Pág.

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
Objetivo General.....	11
Objetivos Específicos.....	11
Hipótesis.....	12
METODOLOGÍA GENERAL	13
Área de estudio y colecta de muestras	13
Análisis de Ácidos Grasos.....	14
Metilesterización (fracción de ácidos grasos)	14
Cromatógrafo de gases y espectrometría de masa (GC-MS)	14
Análisis cualitativo e identificación de PLFA metilesterizados.....	14
Análisis cuantitativo-curva de calibración o estándar de cuantificación	15
Nomenclatura de los ácidos grasos.....	15
RESULTADOS.....	16
CAPÍTULO I	16
Fatty acids in <i>Merluccius australis</i> tissues, a comparison between females from inshore and offshore spawning areas in the Chilean Patagonia	16
Abstract	17
Introduction.....	18
Materials and Methods.....	21
Field Collection of female tissues	21
Fatty Acids analyses	21
Results	22
Fatty Acids in female southern hake tissues	23
Fatty acid differences in females from the three locations	25
Discussion	25
Use of fatty acid as biomarkers in different habitats	27
Acknowledgements.....	30

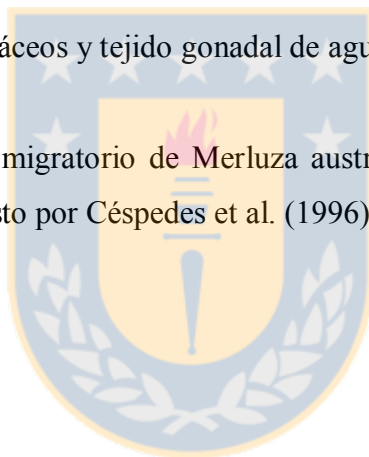
References	31
CAPÍTULO II.....	45
Análisis de Ácidos grasos en Crustáceos de la zona de Aguas interiores	45
Introducción.....	45
Resultado	45
Discusión.....	46
DISCUSIÓN GENERAL.....	49
BIBLIOGRAFÍA	57



ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figure 1 Study area showing the inshore and offshore sampling sites of mature southern hake females during August 2010.....	36
Figure 2 Boxplot of fatty acid concentrations of saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids, in the Gulf of Ancud, Guafo and Guamblin Islands of southern hake females	37
Figure 3 Boxplot of the fatty acid concentrations of PUFAs 18:2(n-6), AA, EPA, and DHA in gonads livers and muscles of southern hake females.....	38
Figura 4 Comparación de crustáceos y tejido gonadal de agua interior y exterior.....	48
Figura 5 Esquema del patron migratorio de Merluza austral entre aguas interiores y exteriores de la X y XI propuesto por Céspedes et al. (1996).....	56



ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Table 1 Biological data of female southern hake from which tissue samples were collected during the winter spawning season in Chilean Patagonia.....	39
Table 2 Fatty acid composition in gonads, livers and muscles of southern hake females collected from a) Gulf of Ancud, b) Guafo and c) Guamblin Islands.....	40-42
Table 3 Fatty acid fractions (SAFA, MUFA, PUFA) determined in southern hake tissues and from data reported in the literature for different species.....	43
Tabla 4 Essential fatty acid (PUFA%) DHA, EPA and AA in southern hake tissues and from data reported in the literature for different species.....	44
Tabla 5 Composición de ácidos grasos en crustáceos <i>Munida</i> sp (n=3) y eufáusido sp (n=4).....	47
Tabla 6 Composición de ácidos grasos en huevos (n=20) de merluza austral colectados en aguas interiores.....	55

RESUMEN

La merluza austral (*Merluccius australis*, Hutton, 1872) constituye uno de los recursos más importantes de la pesquería demersal del sur de Chile. La dinámica espacial descrita para esta especie señala patrones de migraciones entre ejemplares adultos de aguas exteriores (quiebre de plataforma continental) e interiores (canales y fiordos) de la X y XI regiones, donde ocurriría un desplazamiento de la fracción adulta de peces desde aguas interiores hacia aguas exteriores durante el invierno con fines reproductivos (desove) y posteriormente, un retorno hacia aguas interiores para alimentarse. Se ha reportado que las áreas de desove más importantes de merluza austral en la zona sur de Chile corresponde a las zonas alrededor de las islas Guafo y Guamblin (aguas exteriores) durante invierno (julio, agosto y septiembre). Sin embargo, algunos autores han registrado una importante actividad de desove y presencia de huevos de merluza austral en la zona de fiordos y canales (aguas interiores), lo que sugiere la existencia de una fracción desovante residente en la zona de los fiordos. Esta premisa, sin embargo, no ha sido completamente comprobada, y podrían existir variadas posibilidades en cuanto a los ejemplares responsables de los desoves detectados en aguas interiores. Para determinar si los huevos presentes en aguas interiores corresponden a desoves de hembras residentes en esa zona (o a hembras ingresadas desde aguas exteriores), se utilizaron los ácidos grasos (AG) como biomarcadores lipídicos. Los ácidos grasos son la fracción de los lípidos que representa la mayor reserva de energía en peces y son incorporados en peces a partir de la alimentación (dieta) pudiendo ser reconocidos en tejidos de peces adultos y en sus productos reproductivos (huevos). Consecuentemente, se determinó los ácidos grasos presentes en el alimento de las hembras adultas, en el tejido muscular, hepático y gonádico de las hembras adultas y luego en los huevos presentes en el plancton.

Hembras de merluza austral fueron colectadas en época de reproducción a fines de invierno en la zona de aguas exteriores (Islas Guafo y Guamblin) y en aguas interiores (Golfo de Ancud). A las hembras se les extrajó muestras de tejido gonadal, hepático y muscular. Paralelamente, en primavera se colectaron huevos de merluza austral y crustáceos desde el plancton (*Múnida* sp y eufáusidos) en aguas interiores. Las muestras de tejidos y muestras

planctónicas fueron almacenadas en nitrógeno líquido para su posterior análisis de ácidos grasos en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masa donde la identificación de ácidos grasos fue a través de la comparación de espectros de masas.

Con el fin de determinar diferencias en la composición de ácidos grasos entre hembras colectadas en ambas zonas, se analizaron los distintos grupos de ácidos grasos: saturados (SAFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA). Entre los poliinsaturados, énfasis se puso en ácidos grasos esenciales tales como Docosahexaenoico (DHA), Eicosapentaenoico (EPA) y Araquidónico (AA) y se determinó la razón DHA/EPA que ha sido señalada como indicadora de tramas tróficas basadas en diatomeas (DHA/EPA <1) o de dinoflagelados (DHA/EPA >1). Finalmente, se determinó la presencia de algunos AG potencialmente indicadores de la presencia de crustáceos en la dieta (22:1(n-11) y 20:1(n-11)). Los resultados indicaron variaciones en las concentraciones de cada AG entre los tejidos de hembras en aguas interiores y exteriores. Entre los PUFA, las concentraciones de DHA en gónadas fueron mayores en aguas interiores que exteriores. Por el contrario, el DHA y EPA en hígado y músculo fueron mayores en aguas exteriores. La relación de DHA/EPA disminuyó en las gónadas desde aguas interiores a exteriores, sugiriendo una trama trófica basada en diatomeas en aguas exteriores. Paralelamente, AG derivados de crustáceos solo fueron encontrados en huevos en aguas interiores, lo cual coincidió con reportes previos de una mayor proporción de crustáceos en la dieta de adultos en aguas interiores, lo que sugiere que las hembras colectadas en esa zona habrían permanecido y desovado durante la estación reproductiva a fines de invierno-comienzos de primavera en esa misma zona.

Los datos generados en este estudio constituyen el primer reporte de ácidos grasos en tejidos de hembras en merluza austral, en crustáceos del género *Munida*, en eufáusidos y en huevos de merluza austral de la Patagonia. El uso de los AG como biomarcadores lipídicos a lo largo de la trama trófica en distintas zonas de la Patagonia (eg. aguas interiores y exteriores), permitió determinar la procedencia de las hembras de merluza austral durante la temporada de desove en aguas interiores. Esta nueva información es importante para la administración de la pesquería por cuanto se podría evaluar la fracción de hembras que desovan en cada zona y su contribución al stock total de hembras reproductoras.

ABSTRACT

The southern hake (*Merluccius australis*, Hutton, 1872) is one of the most important demersal fishery resources of southern Chile. The spatial dynamics described for this species indicates migration patterns of adults between the outer zone (continental shelf break) and the inner zone (channels and fjords) of X and XI regions. There, a movement of adult fish occurs from inner waters to the outer zone during the winter for reproductive purposes (spawning), and then a return back to inshore waters for feeding. It has been reported that the largest spawning area of southern hake in the southern part of Chile corresponds to the areas around the islands Guafo and Guamblin (outer zone) during winter (July, August and September). However, some authors have registered significant spawning activity and the presence of eggs of southern hake in the fjords and channels (inner waters), which suggests the existence of an adult spawning fraction resident in the fjords. This premise, however, has not been fully tested, and there may be other possibilities in terms of the origin of the spawning individuals detected in inner waters. To determine if eggs present in the inner zone belong to spawning females residents in that area or to females entering from the outer zone, fatty acids (FA) were used as lipid biomarkers. Fatty acids are the fraction of lipids that represent the major reserve of energy in fish and are incorporated in fish from food (diet), and may be recognized in tissues of adult fish and their reproductive products (eggs). Consequently, the fatty acids present in the diet were determined in adult female tissues, muscle, liver and gonad, of adult female and then in eggs present in the plankton.

Southern hake females were collected during the reproductive season in late winter in the outer (Guafo and Guamblin Islands) and inner zone (Gulf of Ancud). From them, gonadal, liver and muscle tissue samples were collected. Similarly, in spring, southern hake eggs and crustaceans were collected from plankton (*Munida* sp and euphausiids) in inner waters. The tissue samples and planktonic samples were stored in liquid nitrogen for later analysis of fatty acids in a chromatograph coupled to a mass gas spectrometer where fatty acids were identified by comparison of mass spectra .

To determine differences in fatty acid composition between females collected in both areas, the different groups of fatty acids were analyzed saturated (SAFA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA). Among the polyunsaturated, emphasis was placed on essential fatty acids such as docosahexaenoic (DHA), eicosapentaenoic (EPA) and arachidonic (AA) and the ratio DHA / EPA which has been proposed to reveal food webs based on diatoms ($DHA/EPA < 1$) or dinoflagellates ($DHA/EPA > 1$). Finally, the presence of some potentially FA indicating the presence of crustaceans in the diet (22:1 (n -11) and 20:1 (n -11)) were determined. The results indicated variations in the concentration of each FA in female tissues between inner and exterior waters. Among PUFAs, DHA concentrations were higher in gonads in females from the inner than outer zones. Conversely, DHA and EPA in liver and muscle concentrations were higher in exterior waters. The ratio of DHA / EPA in the gonads decreased from inner to outer waters suggesting a food web based on diatoms in offshore waters. Similarly, FA reported from crustaceans were only found in eggs at the inner zone, which coincided with previous reports of a higher proportion of crustaceans in the diet of adults in inner waters. These results suggest that females collected in inshore waters would have remained and spawned during the reproduction season in late winter-early spring in the same area .

The data generated in this study are the first report of fatty acids in tissues in southern hake females, crustaceans of the genus *Munida*, in euphausiids and in southern hake eggs from the Patagonia. The use of FA as lipid biomarkers along the food web in different areas of Patagonia (eg. Inshore and offshore), allowed assessing the origin of southern hake females during the spawning season in inner waters. This new information is important for fishery management purposes enabling to evaluate the fraction of females that spawn in each zone and their contribution to the total stock of spawning females.

INTRODUCCIÓN

La zona austral de Chile, área que se extiende desde la X hasta la XII región, 41,5°S (Fiordo Reloncaví) hasta los 55°S (Cabo de Horno), situada en el Pacífico Sur Oriental, se compone por varias islas, penínsulas, fiordos y canales representando un alto grado de complejidad geomorfológico e hidrográfico en la zona (Silva & Palma, 2008). Desde aguas exteriores ocurre un ingreso permanente de aguas oceánicas de origen subantárticas que se mezclan con las aguas interiores más frías y menos salinas, provenientes de precipitaciones, caudales de ríos y el agua de los deshielos de glaciares cordilleranos (Palma & Silva, 2004). La zona costera o agua interior tiene una alta productividad biológica del cual se ha obtenido valiosa información sobre altas concentraciones de huevos y larvas de peces, indicando la existencia de áreas de desove (Balbontín & Bernal, 1997; Balbontín & Córdova 2003; Balbontín & Bernal, 2005).

La merluza austral (*Merluccius australis*, Hutton, 1872) constituye un recurso importante de la pesquería demersal sur austral (PSDA). Esta pesquería se inicia en 1978 mostrando un rápido desarrollo, llegando a desembarques históricos en el año 1988 con 70 mil toneladas. Sin embargo, a partir del año 1991 se observó una declinación en los desembarques, llegando a niveles inferiores a 30 mil toneladas para el año 2008 (Sernapesca, 2011). Actualmente la merluza austral es capturada tanto por el sector artesanal como industrial, abarcando la zona de pesca las aguas interiores y exteriores entre las latitudes 41°28'S y 57°00'S; se reconocen dos unidades de pesquerías, una pesquería norte y otra sur con un límite divisorio entre ambas en los 47°S. Longitudinalmente, la zona de aguas exteriores se extiende hasta una distancia de 60 millas náuticas de la unidad de pesquería norte y 80 millas náuticas de unidad pesquería sur para el interior, ambas medidas desde las línea de base recta (Lillo *et al.*, 2004). Actualmente esta pesquería se encuentra regida por el régimen de administración de límite máximo de captura por armador, sobre la base de aplicar anualmente cuotas de captura de merluza austral y se encuentra declarada “en estado y régimen de plena explotación”, por lo tanto, se mantiene cerrado el acceso de nuevos gestores a la pesquería.

La merluza austral es una especie de hábitos demersales que en aguas interiores se distribuye entre los 70 y 100 m de profundidad, mientras que en aguas exteriores su distribución batimétrica ocurre entre los 60 y 800 m (Ojeda & Aguayo, 1986; Lillo *et al.*, 2009). Desde el punto de vista de la biología reproductiva, es una especie con desove parcial y su talla de primera madurez ocurre en hembras es 69.4 cm LT (Balbontín & Bravo, 1993). El área descrita para el desove de merluza austral comprende las aguas exteriores cercanas a las Islas Guafo y Guamblin (44°-46° L.S; Rubilar *et al.*, 2002) en el período de invierno (julio, agosto y septiembre) (Balbontín & Bravo, 1993). Sin embargo, Bustos *et al.* (2007) registraron una importante actividad de desove y presencia de huevos (Balbontín & Bernal, 1997) de merluza austral en la zona de aguas interiores en el período de primavera, lo que avalaría la existencia de una fracción desovante residente en la zona de los fiordos. Esta premisa, sin embargo, no ha sido completamente comprobada, y podrían existir variadas posibilidades en cuanto a los ejemplares responsables de los desoves detectados en aguas interiores tales como desoves de adultos de talla menor residentes en aguas interiores durante todo el año o desoves tardíos de hembras adultas de talla mayor que hubiesen ingresado a los canales después de su periodo de desove en aguas exteriores.

La dinámica espacial de la merluza austral, estimada a partir de cambios estacionales en el volumen de las capturas, y en la estructuras de tallas en aguas interiores, sugirieren patrones de migración de ejemplares adultos entre aguas exteriores e interiores (Céspedes *et al.* 1996; Rubilar *et al.* 1999). Este modelo de dinámica espacial de la población plantea que en aguas interiores en invierno la estructura de talla de merluza austral corresponde principalmente a juveniles, con escasa presencia de ejemplares adultos, situación que gradualmente se invierte hacia el verano cuando se registran adultos; posteriormente, esta composición gradualmente se “juveniliza” nuevamente hacia el invierno. La presencia y ausencia de peces jóvenes-adultos entre una estación del año y otra fue explicada por patrones migratorios (Fig.7), donde ocurriría un desplazamiento de la fracción adulta para efectos de reproducción (desove) desde aguas interiores hacia aguas exteriores durante el invierno, y posteriormente, fracciones de esta población adulta retornarían en verano hacia aguas interiores para alimentarse (Lillo *et al.* 2004; 2009).

Sin embargo, el modelo anteriormente planteado, no responde en su totalidad a la dinámica existente en la zona sur austral. Los antecedentes aportados por cruceros acústicos en la zona indican que las estructuras de tallas de merluza austral registradas en cruceros realizados tanto en invierno como en verano, correspondieron principalmente a fracciones juveniles de la población. Además, Bustos *et al.* (2007) indicaron presencia de huevos de merluza austral en el plancton de aguas interiores, desconociéndose la procedencia de esos huevos, es decir, si esos huevos corresponden a desoves de adultos de talla menor residentes en aguas interiores durante todo el año o a desoves tardíos de hembras adultas de talla mayor que hubiesen ingresado a los canales después de su período de desove en aguas exteriores.

En el presente estudio se revisó el modelo propuesto por Céspedes *et al.* (1996) y Rubilar *et al.* (1999), incorporándose nuevos antecedentes de la potencial relación entre alimentación de las hembras en aguas interiores y exteriores y posibles desplazamientos entre zonas, estimada a través de análisis bioquímicos. La información a generar, se espera, permita fortalecer las bases conceptuales sobre las cuales se sustenta el conocimiento actual de la estructura poblacional de merluza austral en aguas interiores y exteriores en la zona sur austral.

Utilización de biomarcadores lipídicos

Es amplio el conocimiento de la pesquería de merluza austral, especialmente de la explotación comercial, sin embargo, se desconocen aspectos básicos acerca de la bioquímica, reservas energética, su utilización y transferencias para efectos de reproducción en hembras de aguas interiores y exteriores.

En la actualidad se han identificado biomarcadores lipídicos como los ácidos grasos (AG), que son incorporados en los peces adultos a partir de la dieta y que pueden ser reconocidos en el alimento de los adultos, en tejidos y también en sus productos reproductivos (huevos). Entre éstos, y a diferencia de otras moléculas que son parte de la dieta de los consumidores como por ejemplo proteínas y carbohidratos, los ácidos grasos mantienen su estructura básica incluso después de la digestión, por lo que al conservarse en los tejidos de los consumidores son posteriormente reconocibles (Napolitano, 1999). Si la dieta de dos o más

organismos ha sido diferente entre dos o más zonas, por lo tanto, la presencia de estos biomarcadores en sus tejidos debería permitir revelarlo.

Generalmente los estudios tradicionales sobre la dinámica alimentaria utilizan el contenido estomacal y consumo de alimento y con esta información se puede comparar hábitos alimentarios en distintas zonas (Alfaro *et al.*, 2006; Alfaro, 2008). Este tipo de estudios, sin embargo, da cuenta sólo de la alimentación reciente (escala de horas). Las aproximaciones con el análisis de ácidos grasos permiten complementar e integrar las conductas alimentarias a escalas de tiempo más largas. Debido a sus propiedades conservativas, el contenido AG encontrado en un organismo en un momento determinado es el reflejo de su dieta integrada en un período de tiempo, que pueden ser días, semanas e incluso algunos meses, dependiendo del metabolismo del organismo (Napolitano, 1999; Dalsgaard *et al.*, 2003).

Los ácidos grasos son utilizados como biomarcadores lipídicos ya que son componentes esenciales en todas las células vivas constituyendo la fracción principal de los lípidos en organismos acuáticos (Sargent *et al.*, 1987). Ejemplos en la literatura muestran el uso de ácidos grasos como biomarcadores a través de la trama trófica, los que en su mayoría han sido estudiados e identificados en organismos del plancton claves en la trama trófica como bacterias, diatomeas, flagelados, dinoflagelados, zooplancton y macroalgas (Dalsgaard *et al.*, 2003). Recientemente, se registran estudios de ácidos grasos hasta niveles superiores incluyendo larvas de peces. Experimentos en laboratorio evaluaron la transferencia de ácidos grasos hacia larvas de bacalao, identificando en ellas biomarcadores lipídicos específicos que habían sido ingeridos a partir de la dieta (Saint John & Lund, 1996) lo que demuestra que la composición de ácidos grasos en peces puede ser afectado por la dieta (Dalsgaard *et al.*, 2003). Por ejemplo, la relación de (n-6)/(n-3) es un indicador general de herbivoría en el zooplancton, el DHA (Ácido Docosaheptaenoico) y el AA (Ácido Araquidónico) son biomarcadores de dinoflagelados, mientras que el EPA (Ácido Eicosapentaenoico) corresponde a diatomeas (Sargent *et al.*, 1987; Dalsgaard *et al.*, 2003). Por tanto, el estudiar el perfil de ácidos grasos en tejidos de peces reflejará en gran medida la ingesta del alimento (Magalhaes *et al.*, 2010).

La transferencia de los AG desde el alimento ha sido detectada tanto en trabajos experimentales en acuicultura, como en poblaciones de peces en distintos tipos de ambientes naturales así como en peces pelágicos como demersales. En el campo de la acuicultura Li *et al.* (2005) examinaron en reproductores y huevos de *Plectorhynchus cinctus*, la transferencia de diferentes dietas experimentales formuladas con similar composición pero en diferentes proporciones de ácidos grasos (omega 3); sus resultados reflejaron que los ácidos grasos en proporciones presentes en los huevos fueron afectados por la dieta. En poblaciones de peces en ambientes naturales, como el arenque del Pacífico (*Clupea harengus payasis*), se examinaron diferentes tejidos somáticos y reproductivos en hembras de diferentes estados de madurez y se determinó que la composición de ácidos grasos varió de acuerdo a la alimentación y estado reproductivo. La variación no sólo fue en las gónadas, sino también de los demás tejidos hígado, intestino y músculo (Huynh *et al.*, 2007). A su vez, Magalhaes *et al.* (2010) identificó en dos especies de peces de la antártica (*Notothenia coriiceps* y *Notothenia rossii*) diferencias en la composición de ácidos grasos de tejidos como músculo, hígado, gónadas y corazón, cuya condición fue atribuida a la dieta consumida por los peces. Por su parte Garrido *et al.* (2007), indicaron diferencias en la composición de ácidos grasos identificados en músculos y gónadas de peces adultos, donde la alimentación fue la determinante a las diferencias presentadas, debido a variaciones estacionales y geográficas de los muestreos, lo que indica que la composición de ácidos grasos muestra una variabilidad espacial, donde la alimentación de los peces está estrechamente relacionada a la estación y lugar físico. Previamente, Lasker y Theilacker (1962) habían demostrado que los lípidos en la sardina (*S. caerulea*) en huevos recogidos del plancton, tienen una composición muy similar a los lípidos de ovario, lo que lleva a suponer que los lípidos de los ovocitos son representativos de aquellos que se encuentran en el huevo. Asociado a este tipo de estudios, se ha demostrado que el traspaso de los ácidos grasos desde la dieta de los adultos puede incluso manifestarse en la composición de ácidos grasos en los huevos. Ejemplo de esto último en pelágicos pequeños ha sido documentado en Chile central donde variaciones interanuales en la composición del alimento de la anchovetas en el medio pudo ser identificada a través de la composición de ácidos grasos en huevos colectados desde el plancton (Castro *et al.*, 2010). Por su parte en sistemas de agua dulce, la composición de ácidos grasos pudo ser determinada en diferentes especies de

peces y de invertebrados en el lago Michigan (Czesny *et al.*, 2011). Recientemente, Rojbek *et al.* (2012) no sólo identificó diferencias en ácidos grasos en el bacalao del Báltico debido a la depredación de crustáceos (isópodos) y peces pelágicos pequeños (Sprattus y arenque), además fueron capaces de conectar los retrasos de desove y cambios estacionales con la disponibilidad de algunos ácidos grasos a partir de sus diferentes presas. En resumen, los resultados de los trabajos señalados anteriormente indican, por lo tanto, que la composición de ácidos grasos en los distintos tejidos e incluso posteriormente en huevos en el plancton puede ser directamente influenciada por la alimentación de los adultos (Bell *et al.*, 1997).

La merluza austral en aguas exteriores e interiores, preda sobre la merluza de cola principalmente, siendo habitual también encontrar en contenidos gástricos en peces de aguas exteriores a presas como merluza de tres aletas y mictófidios. En cambio, en la dieta de merluza austral de aguas interiores se registra la presencia de canibalismo y una mayor participación de los crustáceos, especialmente del camarón (*Pasiphaea dofleini*); el resto de las presas identificadas representa menos del 1,5% (Lillo *et al.*, 2004).

Con el fin de establecer si los ácidos grasos pueden ser utilizados como biomarcadores de alimentación en distintas zonas que nos permitan identificar potenciales movimientos de merluza austral entre aguas interiores y exteriores, el objetivo del presente estudio fue determinar la composición de ácidos grasos en diferentes tejidos de hembras de merluza austral en zonas de aguas interiores y exteriores de la X región de los Lagos e identificar marcadores que puedan servir como diferenciadores de presas presentes en la dieta en distintas zonas.

Objetivo General

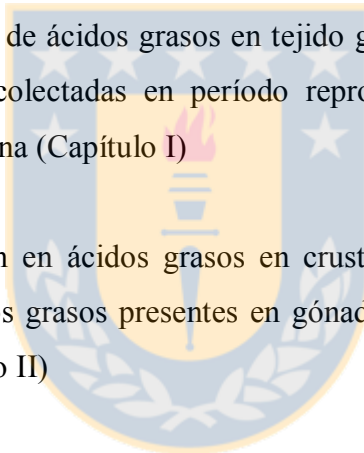
Determinar la composición de ácidos grasos en tejidos de merluza austral en el período reproductivo en aguas interiores (canales y fiordos) y exteriores (oceánicas) en la Patagonia Chilena.

Objetivos Específicos

1.- Desarrollar la técnica de extracción de ácidos grasos en tejidos de peces y en crustáceos de la Patagonia.

2.- Determinar la composición de ácidos grasos en tejido gonadal, hepático y muscular en hembras de merluza austral colectadas en período reproductivo en aguas interiores y exteriores de la Patagonia chilena (Capítulo I)

3.- Determinar la composición en ácidos grasos en crustáceos de aguas interiores y su potencial asociación con ácidos grasos presentes en gónadas de merluza austral de aguas interiores y exteriores (Capítulo II)



Hipótesis

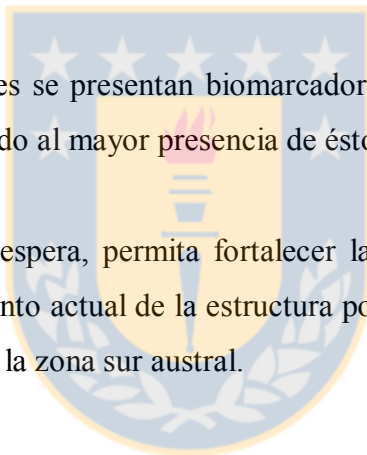
El modelo de dinámica poblacional de la merluza austral propuesto por Céspedes *et al.* (1996) y Rubilar *et al.* (1999) en la zona sur austral de Chile, propone desplazamientos de adultos desde aguas interiores hacia aguas exteriores con fines de reproducción, y desde aguas exteriores hacia el interior para alimentación. Considerando, una composición diferente del alimento ingerido en las distintas zonas, se proponen las siguientes hipótesis:

Hipótesis 1:

Existen diferencias en la composición de ácidos grasos en los tejidos de hembras de merluza austral colectadas en zonas de aguas interiores y exteriores.

Hipótesis 2: En aguas interiores se presentan biomarcadores específicos de crustáceos en tejidos de merluza austral, debido a la mayor presencia de éstos en la dieta.

La información a generar, se espera, permita fortalecer las bases conceptuales sobre las cuales se sustenta el conocimiento actual de la estructura poblacional de merluza del sur en aguas interiores y exteriores de la zona sur austral.



METODOLOGÍA GENERAL

Área de estudio y colecta de muestras

El estudio se llevó a cabo en el quiebre de la plataforma continental (agua exterior) y en aguas interiores de la zona norte de la Patagonia Chilena, durante el invierno-primavera de 2010. Hembras de merluza austral fueron colectadas mediante red de arrastre alrededor de la Isla Guafo (43,5 °S) e Isla Guamblin (44,5 °S) (aguas exteriores) en un crucero de evaluación de stocks realizada por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), a bordo del buque de arrastre “Frío Sur VIII”. Las hembras de la zona de aguas interiores se obtuvieron en el Golfo de Ancud (42 °S) abordando de una embarcación artesanal mediante pesca con espinel. Los datos biológicos incluyeron la longitud total (LT, cm), peso (g), el índice gonadosomático (IGS) y factor de condición (Kc) calculado para cada hembra de merluza austral. Se determinó macroscópicamente la etapa de madurez gonadal de acuerdo a la escala de madurez propuesta por Balbontin & Bravo (1993), seleccionando hembras en estado 4, que corresponde a una etapa avanzada donde el ovario se encuentra turgente, de color amarillo a anaranjado pálido, fase avanzada donde los ovocitos fluyen del ovario al presionar el abdomen. Con datos de la longitud total se determinó la edad de las hembras en base a un modelo de Von Bertalanffy propuesto para la merluza austral (Chong *et al.*, 2007). Muestras de crustáceos para análisis de ácidos grasos se obtuvieron desde aguas interiores (41.7°S) mediante colectas de plancton con una red Tucker trawl (300 um tamaño trama) y una red de cerco de tipo anchovetera de 5 mm.

De un total de 19 hembras de merluza austral, se analizó los ácidos grasos en el tejido muscular, gonadal y hepático. Paralelamente, se determinaron los ácidos grasos en 7 crustáceos (*Munida* sp y eufáusidos) colectados en período primavera-verano. En terreno, una vez obtenidos los tejidos de merluza austral y de crustáceos, fueron conservados a -20 °C hasta su transporte al laboratorio en la Universidad de Concepción donde fueron almacenados en nitrógeno líquido en el Laboratorio de Oceanografía Pesquera y Ecología Larval (LOPEL) para posterior análisis. En el laboratorio de Geoquímica Orgánica (GOM) de cada tejido se extrajo al menos de 25g de tejido, mientras que cada crustáceo fue molido

completamente con un mortero, para luego ser almacenado en crioviales (1,8 ml) para posterior análisis de ácidos grasos.

Análisis de Ácidos Grasos

Los tejidos (hígado, gónada y músculo) y crustáceos fueron liofilizados y extraídos con CH_2Cl_2 : CH_3OH (3:1 v/v) usando Acelerador de Solvente Extracto (ASE-350) (Dionex ®) (Loh *et al*, 2008; Yoshinaga *et al*, 2008). El extracto lipídico se concentró utilizando TurboVap LV. Los extractos fueron saponificados con una solución 0,5N de KOH/metanol. Los lípidos fueron extraídos de la solución básica a $\text{pH} > 13$ utilizando hexano que se acidificó mediante la adición de HCl a $\text{pH} < 2$.

Metilesterización (fracción de ácidos grasos)

Fracciones ácidas se metilaron con BF_3 y fueron puesto en una placa calefactora por una hora para producir ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) (Christie, 1989).

Cromatógrafo de gases y espectrometría de masa (GC-MS)

Los ácidos grasos se determinaron en un cromatógrafo de gases (CG) Agilent 7890A equipado con una columna capilar HP5-MS, se utilizó He como gas de arrastre a un flujo de 1 ml min^{-1} , y un detector de masa Agilent. Se utilizó un programa de temperatura desde $120 \text{ }^\circ\text{C}$ a $290 \text{ }^\circ\text{C}$ a una tasa de $4 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.

Análisis cualitativo e identificación de PLFA metilesterizados

La identificación de los ácidos grasos se realizó en base a la librería interna del GC-MS-NIST y una base de datos electrónica a través de la comparación de los espectros de masas y búsqueda de tiempos de retención.

Análisis cuantitativo-curva de calibración o estándar de cuantificación

La concentración se calculó utilizando una curva de calibración de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME Supelco 37 compost mezcla de 10 mg ml⁻¹ pulg CH₂Cl₂). Methyltridecanoato (500 mg L⁻¹) se añadió como estándar de inyección (Blume *et al.*, 2002). Se obtuvieron los datos y se procesaron con Agilent Chemstations software.

Nomenclatura de los ácidos grasos

La nomenclatura utilizada para nombrar a las cadenas de ácidos grasos fue, x : y (n – z), donde x es la cantidad de átomos de carbono de la cadena, y es el número de doble enlaces que tiene la cadena, (n – z) indica la posición del primer doble enlace desde el extremo metilo.

La información de la contribución de la composición de ácidos grasos (AG) fue analizada considerando a) todos los ácidos grasos (composición total de AG) b) clasificada según el grupo de ácidos grasos al que corresponde, Ácidos grasos saturados (SAFA); Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA); Ácidos grasos poli-insaturados, (PUFA) c) considerar los ácidos grasos como biomarcadores individuales presentes/ausentes entre el consumidor y su alimento.

Los resultados se expresaron en µg mg de peso seco y en porcentaje (%) de todos los ácidos grasos cuantificados en cada tejido. Las comparaciones incluyeron la concentración de AG (µg mg⁻¹) en los tres tejidos (hígado, músculo y gónadas) en cada área (Golfo de Ancud, Isla Guafo e Isla Guamblin), comparación entre grupos de ácidos grasos (SAFA, MUFA y PUFA) y analizados como biomarcadores específicos señalando su abundancia y presencia/ausencia. Con análisis de ANOVA no paramétrica como el Test de Kruskal-Wallis implementada en R (versión 2.14.1) y STATÍSTICA (versión 6.0).

RESULTADOS

CAPÍTULO I

Fatty acids in *Merluccius australis* tissues, a comparison between females from inshore and offshore spawning areas in the Chilean Patagonia

Gabriela Medina* ^{a,b}, Leonardo Castro ^b and Silvio Pantoja ^c

^{a,b} Programa Magíster en Pesquerías, Universidad de Concepción, Chile

^bLaboratorio de Oceanografía Pesquera y Ecología Larval, Departamento de Oceanografía & Programa COPAS Sur-Austral, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

^cLaboratorio Geoquímica Orgánica, Departamento de Oceanografía & Programa COPAS Sur-Austral, Universidad de Concepción, Chile

Manuscrito Aceptado en Fisheries Research, Edición especial “Advances in Fisheries Research in Iberoamerica”

Abstract

Southern hake supports one of the most commercially important fisheries of southern Chile. Its main recognized spawning area is located offshore in canyons along the continental shelf margins of northern Patagonia, but recently eggs have been observed in inshore channels and fjords. Whether the eggs reported in inshore areas were spawned in this area by winter-spring resident female fish or by females entering the inner area from the offshore spawning zone is not clear yet. In this study we examine the fatty acid composition of female southern hake gonadic, liver, and muscle tissues to explore whether they could be used as bio-indicators of the origin of females collected in the inshore (Gulf of Ancud) and main spawning offshore area (around the Guafo and Guamblin Islands) during winter. Results showed that, while in offshore females the liver tissues presented the highest fatty acid contents, in inshore females the highest fatty acid concentrations were found in the gonads. Among PUFAs, docosahexaenoic acid (DHA) contents in the gonads were higher in inshore than in offshore waters. Conversely, in liver and muscle tissues, DHA contents were higher offshore than inshore. In liver and muscle tissues, docosahexaenoic acid (EPA) was higher in inshore than in offshore waters. The DHA/EPA ratio decreased in gonads from inshore to offshore zones. Thus, our overall results reveal that the fatty acid in the three tissues differed between individuals collected in inshore and offshore zones suggesting that their main food and overall trophic webs varied between areas, and also that these groups of fish may have been residing separately in each zone during the winter season, supporting the hypothesis of alternative reproductive zones for the austral hake in the northern Chilean Patagonian area.

Key words: Fatty acids, DHA, EPA, Patagonia, southern hake, demersal fish

Introduction

Knowledge on the origin of females in a spawning area during the reproductive season is important for the understanding of population dynamics and particularly relevant for the management of fisheries resources that show multiple spawning locations. For investigators interested in the early life stages of fish this information is also a key issue because the quality of the young offspring and their subsequent changes of survival in a given environment may be partly determined during embryogenesis. The transference of these maternal factors to the eggs is affected by the age, size and physiological state of the female which, among others, depends on the type of food ingested, nutrients accumulated in the different tissues and the transpass to the ovaries (Macchi *et al.*, 2006; Garrido *et al.*, 2007). Fatty acids present in the fish diets are some of these factors suggested as determinant of the quality of the eggs, and interestingly, their presence and proportion in fish tissues vary according the food webs present in different times during the year or locations (Dalsgaard *et al.*, 2007). Accordingly, recent studies have utilized variations in the fatty acid composition in fish tissues to assess past changes in the spawning habitat conditions or to reveal changes in locations of the fish due to migrations.

Fatty acids constitute a large fraction of lipids in fish that are important for successful reproduction and are crucial for the future requirements of the fish progeny (Tocher, 2003). Monounsaturated fatty acids (MUFA) play an important role as a primary energy source for embryonic development, whereas polyunsaturated fatty acids (PUFA) are important during growth, development of the brain and nervous system, pigmentation, and behavior. Deficiencies in essential fatty acids can cause abnormalities and affect the success and development of eggs and larvae (Ishizaki *et al.*, 2002). Examples of essential PUFA that are important during early life stages of fish development are docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA), and arachidonic acid (AA). In adult fish, fatty acids enter the fish during feeding and are incorporated into different body tissues.

Fatty acids have been used as biomarkers because once they are produced at the base of the trophic web they may be identified throughout the different trophic levels. Fatty acids have

been identified from bacteria, diatoms, dinoflagellates, and then in ciliates, different types of copepods, and in fish (Sargent *et al.*, 1987; Dalsgaard *et al.*, 2003). EPA has been associated with diatoms and the DHA/EPA ratio in fish tissues has been used to assess differences in food webs based on dinoflagellates or diatoms (Budge & Parrish, 1998). Accordingly, FA in fish tissues may be used as bioindicators of the precedence of fish if the locations where they had been feeding show differences in trophic webs. In *Sardina pilchardus*, for instance, Garrido *et al.* (2007) revealed differences in essential fatty acids in the muscles and gonads in fish collected in different areas around the Iberian Peninsula, and also demonstrated that fatty acids vary their concentrations in different spawning months at the different geographic locations. In the upwelling area off central Chile, inter-annual variations in the maternally supplied fatty acids from the female anchovy *Engraulis ringens* to their eggs during the winter spawning season have been reported in years of contrasting oceanographic and feeding environments (Castro *et al.*, 2010). In fresh water systems, the fatty acid composition was assessed in different fish and invertebrate species within Lake Michigan (Czesny *et al.*, 2011). Their results demonstrated differences among fish species in fatty acid composition between pelagic and benthic species, and revealed changes in fatty acids among localities in some fish species due to changes in diet during their inshore-offshore migrations within the lake. More recently, Rojbek *et al.* (2012) not only identified differences in fatty acids in Baltic cod due to predation on crustaceans (isopods) or small pelagic fish (sprat and herring) but also were able to connect the delays in their spawning season with the seasonal changes in availability of some fatty acids from their different prey. Finally, at shorter time and space scales, late larval stages of cod feeding within and far from frontal structures in the North Sea have also been shown to present differences in FA composition (Saint John & Lund, 1996). The studies here reported, thus, support the use of FA as biomarkers for identifying of fishes from different environments as well as their potential movements in time scales from few weeks to seasons, particularly between environments with contrasting food webs.

Southern hake (*Merluccius australis*, Hutton 1872) is a demersal fish species distributed in the southern hemisphere along the coast of Argentina 50°-55° S associated with the cold waters of the Malvinas Current (Garcia de la Rosa *et al.*, 1997) and along southern Chile

from 38°S to 55°S (Lillo *et al.*, 1997; Cousseau and Perrotta, 1998). The species main spawning area is located along the shelf break and canyons off the northern area of the Chilean Patagonia, close to Guafo and Guamblin Islands (43-45°S), and occurs in winter from July through September (Ojeda & Aguayo, 1986; Balbontín and Bravo, 1993; Rubilar *et al.*, 2002; Lillo *et al.*, 2009). During the last decade, a large number of eggs have also been reported in spring in some inshore areas of the northern Patagonia such as the Gulf of Ancud (42° °S) and nearby fjords and channels (inner waters), suggesting these inshore areas also as potentially important zones for reproduction and nursing (Balbontín & Bernal, 1997, Bustos *et al.*, 2007). Whether the eggs reported in inshore areas were spawned in this area by winter-spring resident female fish or by females entering the inner area from the offshore spawning zone, is a subject that remains to be determined.

In this study we examine the FA composition of different female southern hake tissues to explore whether they could be used as bio-indicators of the origin of females collected in the inshore and offshore areas of the Chilean Patagonia during winter. Fatty acids have the advantage, compared with the direct examination of gut contents, that summarizes the diet of fish for a longer time scale than direct gut contents examinations and hence may give us information on past feeding in the different environments they have been located. Here, we assessed the fatty acid composition in gonads, liver, and muscle of females collected in the Gulf of Ancud (inshore), and around the Guafo and Guamblin Islands (offshore). Previous reports from these areas have shown seasonal changes in the base of the trophic web in the inshore zone (primarily of ciliates and small flagellates in winter) (González *et al.*, 2011), differences in particulate organic matter sources in areas close to river mouths compared with those exposed to more oceanic water (revealed by isotopic C and N fractionation and FA in plankton) (Vargas *et al.*, 2011) and also differences in size and type of the copepods present in channels and offshore waters (Landaeta & Castro, 2006). All of the above could leave a signal in the fatty acid composition in fish from inshore and offshore areas.

Materials and Methods

Field Collection of female tissues

The study was carried out during the winter of 2010 over the continental shelf break and in inshore waters of the northern area of the Chilean Patagonia (42-47°S). Female *Merluccius australis* were collected offshore around the Guafo (43.5 °S) and Guamblin (44.5°S) Islands (Fig. 1) by a stock assessment cruise conducted by the Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) aboard the Frio Sur VIII trawling vessel. In inshore waters, samples were obtained from the Gulf of Ancud (42 °S) by long-line fishing boats. Biological data including total length (TL, cm), weight (g), gonadosomatic index (GSI), and condition factor (Kc) were estimated for each fish. In the females the gonadal maturity stage was macroscopically determined. Females were selected in the fourth gonadic stage that is in an advanced stage where the ovary is turgid and orange and the oocytes flow from the ovary when pressing the abdomen, following a gonadic maturity scale proposed by Balbontin & Bravo (1993). From the fish body size data, age (in years) was estimated using a Von Bertalanffy model previously constructed for southern hake (Chong *et al.*, 2007). From a total of 19 females, tissue samples of muscle, gonad, and liver were obtained and then preserved at -20 °C until transportation to the laboratory at the University of Concepción where they were stored in liquid nitrogen for later fatty acid analyses. In the laboratory, after thawing, each tissue was dissected and extracted (less than 25 g in fish), and these were then stored in cryovials (1.8 ml) for fatty acid analyses.

Fatty Acids analyses

The tissue samples were freeze-dried and extracted with CH₂Cl₂:CH₃OH (3:1 v/v) using an ASE-350 Accelerated Solvent Extractor (Dionex[®]) (Loh *et al.*, 2008; Yoshinaga *et al.*, 2008). The lipid extract was concentrated using Turbovap LV. Extracts were saponified with aqueous 0.5 N KOH and neutral (non-saponifiable) lipids were extracted from the basic solution at pH > 13 using hexane (3x), which was acidified by adding HCl to pH < 2 and extracted again with hexane (3x). Acidic fractions were methylated with BF₃ (14% in CH₃OH) to produce fatty acid methyl esters (FAMES) (Christie, 1989).

Fatty acids were determined in an Agilent 7890A gas chromatograph (GC) equipped with a capillary column HP5-MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm), using He as gas carrier transporter at a flow rate of 1 mL min^{-1} , and an Agilent mass detector 5975C with electron ionization at 70 eV. A temperature program from 120°C to 290°C at $4^{\circ}\text{C min}^{-1}$ was used. Identification of fatty acids was performed based on the internal library of the GC-MS–NIST and on an electronic data set (www.lipidlibrary.co.uk/ms/arch_me/index.htm) by comparing mass spectra and retention times. Concentration was calculated using a calibration curve of fatty acid methyl esters (Supelco 37 Compost FAME Mix 10 mg mL^{-1} in CH_2CL_2). Methyltridecanoato (500 mg L^{-1}) was added as injection standard (Blume *et al.*, 2002). Data was acquired and processed with Agilent Chemstations Software.

Results are reported in $\mu\text{g mg}^{-1}$ FA of dry weight tissue and as percentage of all FA quantified in each tissue. Comparisons included a) the concentration of FA ($\mu\text{g mg}^{-1}$) among the three tissues (liver, muscle, and gonad) in females from each area separately (Gulf of Ancud, Guafo Island, and Guamblin Island), b) the concentrations of the different FA groups (Saturated Fatty A (SAFA), Monounsaturated Fatty Acids (MUFA), Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) and within the PUFAs, c) the EPA, DHA, and AA concentrations in every tissue in each area, through ANOVA and Kruskal-Wallis tests implemented in R (version 2.14.1) and STATISTICA (Version 6.0).

Results

Females southern hake collected in the three different areas (Fig.1) ranged from 66 to 103.2 cm TL. Body weight, age, Gonadosomatic Index, and Condition Factor of those females analyzed increased from the inshore area (Gulf of Ancud) to the offshore islands (Guafo and Guamblin Islands) (Table 1). In the Gulf of Ancud, the body weights of mature females fluctuated between 2200 and 4800 g, their total length (TL) between 67 and 86 cm, their average IGS was 6.04 ± 2.68 , and their average Condition Factor (Kc) was 0.67 ± 0.07 . The mean age of all females in the Gulf of Ancud was 11 years. Offshore, in the Guafo Island, sampled female body weights fluctuated between 4200 and 8200 g and their total length (TL) between 81.6 and 103.2 cm. Their mean IGS was 8.1 ± 1.3 and the Condition Factor

(Kc) was 0.71. The mean female age was 18 years, ranging between 13 and 25 years. The body weights of mature females collected offshore around the Guamblin Island ranged from 6300 to 8800 g and their total length between 87 and 94 cm. Their mean GSI was 9.8 ± 2.5 and their Condition Factor (Kc) was 0.87. The average age of all females was 17 years (Table 1). The maturity phase of females macroscopically determined was stage 4 in the three areas sampled, which corresponds to a mature stage, described as turgent ovaries often with translucent areas and yellow to pale orange oocytes larger than 0.85 mm in diameter, visible to the naked eye (Balbontin & Bravo 1993).

Fatty Acids in female southern hake tissues

Gulf of Ancud

In the gonadic tissues, the relative contributions (%) of the three FA classes were PUFA > MUFA > SAFA; in the liver they were MUFA > SAFA > PUFA, and in the muscle were SAFA > MUFA > PUFA (Table 2a). The most abundant (%) SAFA was palmitic acid (16:0) in gonads, liver, and muscle. More stearic acid (18:0) was found in muscle than in liver and gonads. Other saturated fatty acids (14:0, 15:0, and 17:0) were lower than 2.2% in the different tissues. MUFA with highest concentrations (%) were oleic acid (18:1(n-9)) occurring in gonad and liver, and palmitoleic acid (16:1(n-7)). Concentrations of FA 17:1(n-8), 22:1(n-9), and 24:1(n-9) were lower than 3.5 % in all samples. Among PUFA, the docosahexaenoic acid (DHA, 22:6(n-3)) in southern hake females was the highest in percentage in gonads, the eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5(n-3)) was intermediate and the arachidonic acid (AA, 20:4(n-6)) was the lowest in concentrations, never exceeding 3% (Table 2a).

Guafo Island

The relative contribution (%) of total MUFA and PUFA were very similar in gonads and liver and higher than total SAFA in the same tissues. In muscle, the total relative contribution (%) was SAFA > MUFA > PUFA (Table 2b). The most abundant SAFA was

palmitic acid (16:0) in muscle, gonads, and liver followed by stearic acid (18:0) in muscle, liver, and gonads. Concentrations of other saturated fatty acids (13:0, 14:0, 15:0, and 17:0) were lower than 8.9 % in the different tissues (Table 2b). The highest proportions (%) of MUFA present in the three tissues corresponded to palmitoleic acid 16:1 (n-7), oleic acid 18:1 (n-9), vaccenic acid 18:1 (n-7), and eicosenoic acid 20:1 (n-9). The concentration of 17:1 (n-8), 22:1 (n-9), and 24:1 (n-9) FA was less than 1.72 % in all samples analyzed (Table 2b). Among essential fatty acid of the omega-3 and omega-6 series (PUFA %), the highest proportions corresponded to DHA (22:6(n-3)) in gonads (21 ± 4), liver (15 ± 12), and muscle (7.8 ± 4); followed by EPA (20:5(n-3)) in liver (16 ± 17), in gonads (11 ± 5), and in muscle tissues (7 ± 4.8); and finally AA (20:4(n-6)) in muscle (2.4 ± 1.3), in liver (2.3 ± 1.3), and in gonads (1.1 ± 0.2) (Table 2b).

Guamblin Island

In the gonadic tissue, the contribution (%) of the different FA fractions were MUFA \approx SAFA > PUFA, while for the liver they were MUFA > SAFA > PUFA and in muscle they were SAFA > MUFA > PUFA (Table 2c). Off Guamblin Island, the lowest levels of PUFA in the three tissues analyzed were detected. Among SAFA, the higher proportion corresponded to palmitic acid (16:0) in all tissues studied. Stearic acid (18:0) occurred in low concentrations in all three tissues (Table 2c). The highest proportion of MUFA (%) occurred in gonads and liver and corresponded to palmitoleic acid (16:1(n-7), vaccenic acid (18:1(n-7), oleic acid (18:1(n-9) and eicosenoic acid (20:1(n-9). Muscle tissue presented lower values. Concentrations of other MUFA did not exceed 1.5 % in the different tissues. Among PUFAs (%), in southern hake females the eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5(n-3)) was higher in the liver, followed by the gonadic and muscle tissues. Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6(n-3) showed lower values than EPA in all tissues, and arachidonic acid (AA, 20:4(n-6) had low concentrations, never exceeding 4% (Table 2c).

Fatty acid differences in females from the three locations

The concentrations of the three FA groups (SAFA, MUFA, PUFA) among tissues was similar between offshore females (Guafo and Guablin Islands) but differed with those from the inshore area (Gulf of Ancud) ($p < 0.05$). Female tissues from the two offshore locations showed higher proportion of the three FA groups in liver, then intermediate values in gonads, and finally very low values in muscle. In inshore females this order was different: higher proportion of FA occurred in gonads, then liver, and finally muscle (Fig 3).

Within the PUFA group, a clear decrease in 18:2(n-6), AA, and DHA concentrations in gonads was observed from inner to outer water females (Fig 3). In liver and muscle the DHA concentrations were higher in Guafo and Guablin Islands than in Ancud Gulf. EPA showed similar concentrations among locations in gonads but a clear increasing trend from inner to offshore locations in liver and muscle (Fig 3). AA concentrations in liver and muscle increased seaward. The DHA/EPA ratio showed a decreasing trend in gonads from inshore to the offshore zones suggesting a diatom based food web offshore and a dinoflagellate one in inshore waters (Table 2a, b, c). However, in liver, DHA /EPA was < 1 in all locations.

Discussion

Fish are usually classified according to the lipid content of their flesh (lean, moderate-fat, and high-fat fish). Fatty fish, such as clupeiforms (e.g. *Clupea harengus pallasii*, *Sardina pilchardus*) accumulate lipids and fatty acids in their muscles (Huynh *et al.*, 2007; Garrido *et al.*, 2007). Alternatively, Gadiforms such as hakes, cod, and haddock are typically considered lean fish and their muscle lipid content is less than 1% in weight (Wessels and Spark, 1973; Zeng *et al.*, 2010). Our results of southern hake show that SAFA, MUFA, and PUFA were more abundant in the liver and less abundant in muscle which agrees with previous reports in the literature for lean fish (Table 3). However, FA concentrations were also high in gonadic tissue in females from one of the sampled areas (inshore), an unexpected result that suggests that the accumulation or mobilization of FA among tissues may vary at different locations. When comparing our results with others that report

proportions (%) of FA groups (SAFA; MUFA; PUFA) (Table 3), a consistent pattern of relative importance among FA groups was not detected among the three *Merluccius* species for which we counted with information (eg. MUFA > SAFA > PUFA in liver of *M. australis*, *M. capensis*, but not in *M. paradoxus*) nor among the four Clupeids in any tissue.

The most abundant SAFA and MUFA were 16:0 (palmitic acid) and 18:1(n-9) (oleic acid) respectively, and among PUFAS were 20: 5(n-3) (EPA) and 22: 6(n-3) (DHA). Palmitic acid ranged from 15 to 30% of total FA determined in southern hake. These values coincide with those reported for FA in *M. capensis* and *M. paradoxus* in three tissues (white muscle, liver, and skin) by Wessels & Spark (1973) who inform this FA as the most abundant, and with reports by Njinkoué et al. (2002) who reported a 28-31% in muscle and skin tissue of *C. taeniops*. Palmitic acid has been indicated as a source of metabolic energy in fish during growth and particularly during the roe formation stage in female fish (Henderson *et al.*, 1984). Among MUFA, the highest fraction corresponded to oleic acid (18:1(n-9) ranging between 6 and 16% in the three analyzed tissues of Guafo Island southern hake females. These contents are similar to those of mature female *C. harengus pallasii* but lower than non-spawning fish (18%) (Huynh *et al.*, 2007). Spawning fish may require oleic acid for energy metabolism during the course of gonad development, thereof decreasing in muscle and liver lipid reserves. It has been estimated that about 40% of fat deposits are transferred to the ovaries and eggs during reproduction in mature capelin (Henderson *et al.*, 1984).

Among PUFA, DHA and EPA were the most abundant FA in all tissues. The high proportion of DHA and EPA in all tissues of mature females suggests that they are important, particularly in embryonic development and subsequent larval survival and recruitment (Bell & Sargent 2003; Dominguez-Petit *et al.*, 2009). The proportions of essential fatty acids EPA, DHA, and AA in southern hake varied among tissues and were within the ranges reported for other fish species in different tissues (Table 4). Among the three *Merluccius* species for which we found information, the ranking in the proportion of DHA, EPA, and AA varied; while DHA showed the highest proportion among these PUFA in liver and muscle of *M. capensis* and *M. paradoxus*, in females of *M. australis* EPA showed the highest proportion in these two tissues in Guafo and Guambelin Islands.

Clupeids, in turn, did not show a consistent pattern in the ranking among DHA, EPA or AA, except for AA which was always the lowest in concentration, a pattern observed in all tissues and in hakes and clupeids. Despite these low AA contents, it has been suggested that this FA may have a biological importance similar to EPA and DHA in fish because AA is a main precursor of various eicosanoids that are involved in osmoregulation, reproduction, and cardiovascular functions (Tocher & Sargent 1987).

Use of fatty acid as biomarkers in different habitats

Differences were observed in FA concentrations between inshore and offshore females and also in the type of tissue where the FA accumulate at each location. First, the tissues that showed the highest FA concentrations (all FA groups together) differed between localities: while in offshore females the liver tissues showed the highest FA concentrations, in inshore females the gonads contained the highest FA concentrations. Second, among PUFAs, DHA concentrations in gonads were higher in inshore than offshore waters. Conversely, in liver and muscle DHA concentrations were higher offshore than inshore. Third, in liver and muscle EPA increased from inshore to offshore waters. Finally, the DHA/EPA ratio decreased in gonads from inshore to the offshore zones.

Fatty acid composition and proportions may vary according to factors such as physiological stage (age, size, sexual maturity) and food source (Wessels & Spark. 1973; Ackman, 1989). During spawning, fish invest a substantial amount of energy and this leads to a decreased proportion of fatty acids compared with non-reproductive stages, as reported in *S. pilchardus* (Garrido *et al.*, 2007). In our study all female southern hake analyzed were in the same reproductive stage and consequently, differences between females from different areas may not be attributed to reproductive stage. However, body size, weight, and IGS values were larger in offshore females than in inshore ones, a pattern that had been commonly observed in this zone, along with other differences in biological aspects such as condition factor, fecundity, and egg size (Lillo *et al.*, 2005, 2008, 2009, 2011). This group of characteristics that differ between individuals collected in inshore and offshore waters

has led to the hypothesis that individuals collected inshore are either a young fraction of the offshore population that enter the inshore zone in spring, or that they were spawned and remained growing inshore. Our results on FA concentrations show differences in FA proportions and also in the type of tissue where southern hake accumulates them between individuals collected inshore from those from offshore waters suggesting that separate groups of fish have been residing in each zone for several weeks during winter.

Variations in FA composition in fish collected in different locations are the result from the ingestion of preys that are part of food webs based in different primary producers at each location. Usually, larger EPA values have been associated with a diatom-based food chains and DHA/EPA ratios ≥ 1 indicate the predominance of dinoflagellate-based food chains (Budge & Parrish 1998). In our study, the highest EPA values were recorded in liver from offshore females and the DHA/EPA (%) ratios decreased in gonads from inshore (4.46 ± 2.95) to the offshore (0.30 ± 0.35) zones suggesting a diatom based food web offshore and a dinoflagellate one in inshore waters. Previous studies in the channels and inner waters of the northern Patagonia have reported the dominance of a microbial trophic web (bacteria, ciliates, flagellates) during winter and a diatom based one in spring (González *et al.*, 2011). Further north off central Chile, higher EPA values have been detected in eggs from small pelagic fish during very cold winters in which diatoms and large calanoid herbivore copepods have been dominant, and lower EPA values in warmer winter seasons when dinoflagellates and small cyclopoid omnivorous-detritivorous copepods have increased in abundance (Castro *et al.*, 2010). Other reports of differences in FA composition in fish tissues among locations and seasons include organisms from large freshwater ecosystems as well as marine areas. In fish such as white perch in Lake Michigan and also in invertebrates, variations in the FA composition have been observed between seasons and also between inshore and offshore habitats, a result that has lead to infer potential migrations between locations within the lake. In Gadoid species such as Baltic cod, changes in the timing of the reproductive season due to the variations in the availability of dominant preys (herring, sprat, isopods) in different locations were revealed by the FA composition in cod tissues. In this later study, besides identifying the differences in FA in preys and cods from different locations, an analysis of the changes in relative FA proportions in liver

and gonads was obtained during the ovarian maturation, an aspect we could not test because our female southern hake were all in the same reproductive stage.

Results from previous and parallel studies on diets determined from gut contents of southern hake confirm differences may exist in the food items ingested by this species inshore and offshore (Lillo *et al.*, 2011). Gut contents of southern hake obtained during the same cruise when the tissues for FA were obtained revealed that female hakes from all body sizes contained mainly Patagonian grenadier (*Macruronus magellanicus*) (> 70 % Relative Importance Index, RII) and that smaller sized females also ingested other fish such as *Talismania aphos* and *Pasiphaea dofeini* among other items. The only euphausiid reported in gut contents offshore was *Euphausia vallentini* but in very low numbers (< 1% RII). Reports on gut contents of austral hake during winter cruises in inshore waters in previous years revealed that austral hakes were smaller than in offshore waters, that the food items in the guts were also Patagonian grenadier as in offshore waters but in a lower proportion than previously observed offshore (<55% RII), and that other items present in high numbers were myctophiids and *Euphausia mucronata*.

In summary, our study reveals the fatty acid composition in gonadic, liver, and muscle tissues of female southern hake differed between individuals collected in inshore and offshore zones suggesting that their main food and overall trophic webs varied between areas, and also that these groups of fish may have been residing separately in each zone during the winter season. This separate areas of spawning may be advantageous particularly in systems where environmental conditions change frequently as a result of their location close to the limit of large scale systems that originate major marginal currents with opposite directions (Humboldt Current flowing northward and the Cabo de Hornos Current flowing southwards). The observed differences in the tissues where FA accumulates (liver vs. gonads) between geographic locations (offshore vs. inshore), though, remains to be explained in future studies especially considering that females of both locations, despite their differences in body size, were in a same reproductive stage.

Acknowledgements

We thank the Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) scientific cruise leaders A Saavedra and S Lillo, their research team, captain and crew of the Frio Sur VIII fishing trawler, D Pezo for sample collection at sea and J Betzhold for collections at the artisan fishery port. We are also thankful to the researchers at the Laboratories of Fisheries Oceanography and Larval Ecology and of Marine Organic Geochemistry (R Castro and V Acuña) at the Universidad de Concepcion for help in the sample processing. This study was financed by the COPAS Sur-Austral program PFB 31/2007.



References

- Ackman, RG. 1989. Nutritional composition of fats in seafoods. *Prog in food and Nutr Sci* 13, 161-241.
- Balbontín, F., Bravo, R. 1993. Fecundidad, talla de la primera madurez sexual y datos biométricos en la merluza del Sur (*Merluccius australis*). *Rev Biol Mar* 28, 111-132.
- Balbontín, F., Bernal, R. 1997. Distribución y abundancia del ictioplancton en la zona austral de Chile. *Cienc. Tecnol. Mar*, 20,155-163.
- Bell, JG., Sargent, JR. 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquac* 218,491– 499.
- Bustos, C., Balbontín, F., Landaeta, M. 2007. Spawning of the southern hake *Merluccius australis* (Pisces: Merlucciidae) in Chilean fjords. *Fish. Res* 83, 23-32.
- Budge, S M., Parrish, CC. 1998. Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland II. Fatty acids. *Org Geochem* 29, 1547-1559.
- Blume, E., Bischoff, M., Reichert, J.M., Moorman, T., Konopka, A., Turco, R. 2002. Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Appli Soil Ecology* 20,171-181.
- Castro, L.R., Claramunt, G., González, H., Krautz, M., Llanos-Rivera, A., Méndez, J., Schneider, W., Soto, S. 2010. Fatty acids in anchoveta eggs, *Engraulis ringens*, during two contrasting winter spawning seasons. *Mar Ecol Prog Ser* 420,193–205.
- Cousseau, M., Perrotta, R. 1998. Peces marinos de Argentina: Biología, distribución, pesca. Publicaciones especiales INIDEP, Mar del Plata 165 pp.

Chong, J., Aguayo, M., Payá, I. 2007. Determination of age, growth and natural mortality of Chilean hoki, *Macruronus magellanicus*, Lönnberg, 1907 (Macruronidae, Gadiformes) from the Southeastern Pacific Ocean. *Rev Biol Mar Oceanogr* 42,311– 333.

Christie, W. 1989. The preparation of derivatives of fatty acids. 36-39. In W.W Christie, (eds) *Gas Chromatography and Lipid Analysis: a Practical Guide*. The Only Press.

Czesny, S., Rinchard, J., Hanson, J.D., Dettmers, M., Dabrowski, K., 2011. Fatty acid signatures of Lake Michigan prey fish and invertebrates: among-species differences and spatiotemporal variability. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 68, 1211–1230.

Dalsgaard, J., St John, M., Kattner, G., Muller-Navarra, D., Hagen, W. 2003. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv Mar Biol* 46, 225-340.

Dominguez-Petit, R., Saborido-Rey, F., Medina, I. 2009. Changes of proximate composition, energy storage and condition of European hake (*Merluccius merluccius*, L.1758) through the spawning season. *Fish Res* 104,73–82.

García de la Rosa, SB., Giusti, A.R. Sanches, F. 1997. Distribución, estructura de tallas y alimentación de la merluza austral (*Merluccius australis*) en el Mar Argentino. Resúmenes expandidos del VII COLACMAR , Vol. I : 350-352.

Garrido, S., Rosa, R., Ben-Hamadou, R., Cunha, M.E., Chicaro, M.A., Van der Lingen, C.D. 2007. Effect of maternal fat reserves on the fatty acid composition of sardine (*Sardina pilchardus*) oocytes. *Comp Biochem Physiol B* 148,398-409.

González, H.E., Castro, L.R., Daneri, G., Iriarte, J.L., Silva, N., Vargas, C.A., Giesecke, R. Sanchez, N. 2011. Seasonal plankton variability in Chilean Patagonia fjords: Carbon flow through the pelagic food web of Aysen Fjord and plankton dynamics in the Moraleda Channel basin. *Cont Shelf Res* 31,225-243.

Henderson, R.J., Sargent, J.R., Hopkins, C.C. 1984. Changes in the content and fatty acid composition of lipid in a isolated population of the capelin *Mallotus villosus*, during sexual maturation and spawning. *Mar Biol* 78,255-263.

Huynh, M.D., Kitts, D., Hu, C. Trites, A. 2007. Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. *Comp Biochem Physiol B* 146, 504-511.

Ishizaki, Y., Masuda, R., Uematsu, K., Shimizu, K., Arimoto, M., Takeuchi, T. 2002. The effect of dietary docosahexaenoic fatty acid on schooling behaviour and brain development in larval yellowtail. *J Fish Biol* 58,1691-1703.

Landaeta, M., Castro, L.R. 2006. Variabilidad estacional en los patrones espaciales de las asociaciones ictioplanctónicas de la zona de Fiordos de Chile Austral. *Cienc. Tecnol. Mar*, 29 (2): 107-127.

Lillo, S., Espejo, M., Rojas, M., Ojeda, V., Cerna, F., Céspedes, R., Adasme, L., Miranda, H., Bravo, C., Balbontín, F., Acevedo, S., Braun, M., Valenzuela, V., Miles, H., Blanco, J.L., Letelier, J., Osses, J. 1997. Evaluación directa del stock desovante de merluza del sur en la zona sur austral. Informe Técnico FIP-IT/ 96-38, 203 pp.

Lillo, S., Céspedes, R., Ojeda, V., Balbontín, F., Bravo, R., Saavedra, A., Barbieri, M., Vera, C. 2005. Evaluación del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral año 2004. Informe Técnico FIP-IT/2004-07, 109 pp.

Lillo, S., Molina, E., Ojeda, V., Céspedes, R., Adasme, L., Rojas, Patricia., Molina, E., Rojas, M., Saavedra, A. 2008. Evaluación del Stock desovante de merluza del sur en aguas exteriores año 2007. Informe Técnico FIP-IT/2007-12, 85pp.

Lillo, S., Molina, E., Ojeda, V., Céspedes, R., Muñoz, Lisandro., Hidalgo, H., Hunt, Karen., Adasme, L., Balbontín, F., Bravo, R., Molina, E., Rojas, M., Meléndez, R., Saavedra, A.

2009. Evaluación de stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral, año 2008. Informe Técnico FIP-IT/ 2008-11,113pp.

Lillo, S., Molina, E., Ojeda, V., Céspedes, R., Hunt, K., Hidalgo, H., Balbontín, F., Bravo, R., Melendez, R. 2011. Pesca de Investigación Evaluación de stock de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral año 2010. SUBPESCA 61pp.

Loh, A., Canuel, E., Bauer, J. 2008. Potential source and diagenetic signatures of oceanic dissolved and particulate organic matter as distinguished by lipid biomarker distributions. *Mar Chem* 112,189-202.

Macchi G.J., Pájaro G., Militelli M.I., Radovani N, Rivas L. 2006. Influence of size, age and maternal condition on the oocyte dry weight of Argentinean hake (*Merluccius hubbsi*). *Fisheries Research* 80: 345-349.

Njinkoué, JM., Barnathan, G., Miralles, J., Gaydou, EM., Samb, A. 2002. Lipids and fatty acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese Coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops*. *Comp Biochem Physiol Part B* 131, 395-402.

Ojeda, V., Aguayo, M. 1986. Edad y crecimiento de merluza del sur (*Merluccius australis*). *Investigación Pesquera* 33,47–59.

Røjbek, M., Jacobsen, C., Tomkiewicz, J., Støttrup, J. 2012. Linking lipid dynamics with the reproductive cycle in Baltic cod *Gadus morhua*. *Mar Ecol Prog Ser* Vol. 471, 215–234.

Rubilar, P., Payá, I., Zuleta, A., Moreno, C., Balbontín, F., Reyes, H., Céspedes, R., Pool, H., Adarme, L., Cuevas, A. 2002. Dinámica del reclutamiento de merluza del sur. Informe Técnico FIP-IT/ 2000M -13,135 pp.

Sargent, JR., Parkes, RJ., Mueller-Harvey, I., Henderson, R. 1987. Lipid biomarkers in marine ecology. In: Sleight, M. (Ed.), *Microbes in the Sea*. Ellis Horwood, Chichester 119-138.

Saint John, M., Lund, T. 1996. Lipid biomarkers: linking the utilization of frontal plankton biomass to enhanced condition of juvenile North Sea cod. *Mar Ecol Prog Ser* 131,75-85.

Tocher, DR., Sargent, JR. 1987. The effect of calcium ionophore A23187 on the metabolism of arachidonic and eicosapentaenoic acids in neutrophils from a marine fish rich in n-3 (polyunsaturated fatty acid). *Comp Biochem Physiol B* 87,733-739.

Tocher, DR. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev Fish Sci* 11,107-184.

Vargas, C., Martinez, R., San Martin, V., Aguayo, M., Silva, N., Torres, R. 2011. Allochthonous subsidies of organic matter across a lake–river–fjord landscape in the Chilean Patagonia: Implications for marine zooplankton in inner fjord areas. *Continental Shelf Research* 31, 187-201.

Wessels, J., Spark, A. 1973. The fatty acid composition of the lipids from two species of hake. *J. Sci. Fd Agric* 24: 1359 - 1370.

Yoshinaga, M., Sumida, P., Wakeham, S. 2008. Lipid biomarkers in surface sediments from an unusual coastal upwelling area from the SW Atlantic Ocean. *Org Geochem* 39,1385 -1399.

Zeng, D., Kangsen, M., AI Qinghui, J., Milley, E., Santosh, L. 2010. Lipid and Fatty Acid Compositions of Cod (*Gadus morhua*), Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Ocean Coast Sea Res* 4,381-388.

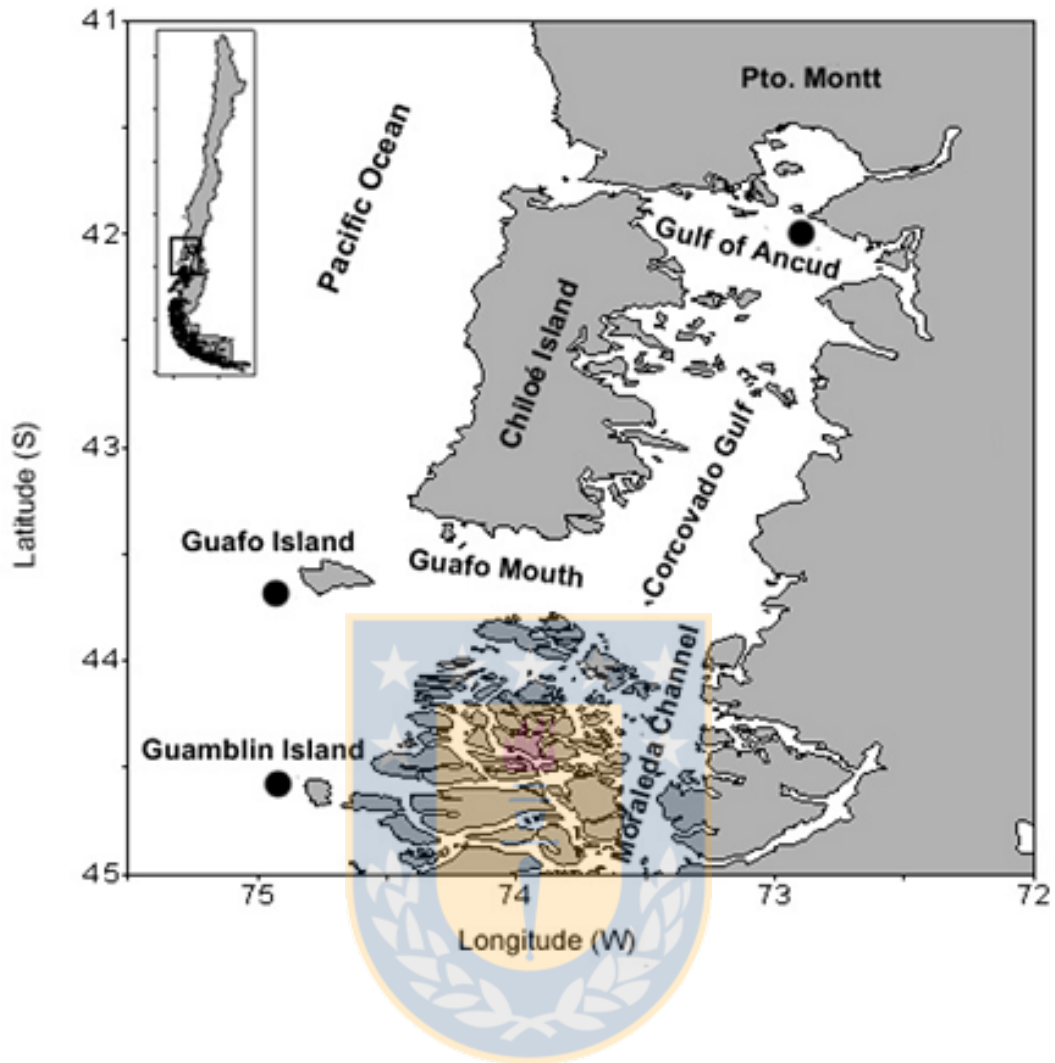


Figure 1 Study area showing the inshore and offshore sampling sites of mature southern hake females during August 2010.

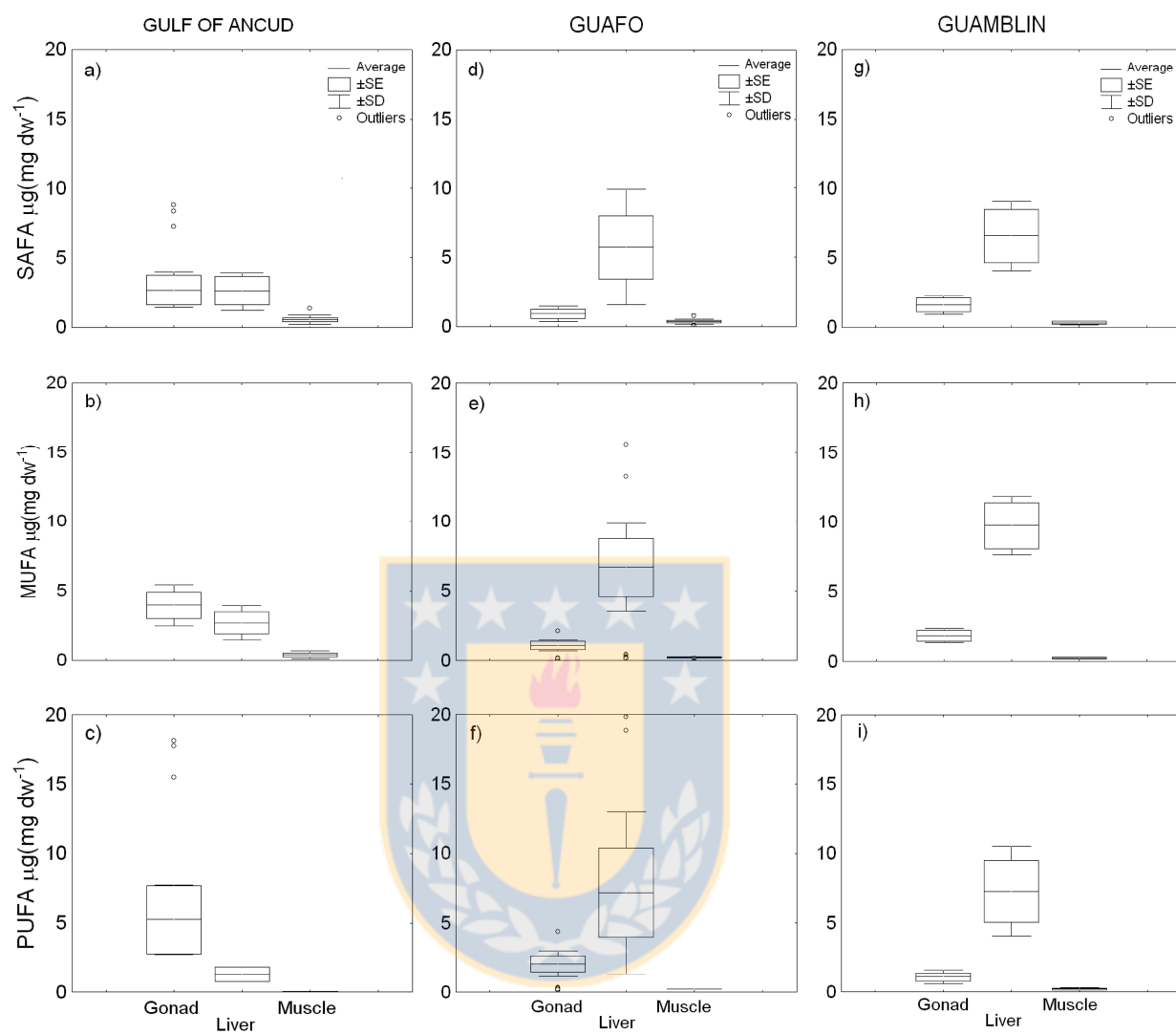


Figure 2 Boxplot of fatty acid concentrations ($\mu\text{g mg dry weight}^{-1}$) of saturated (SAFA), monounsaturated (MUFA), and polyunsaturated fatty acids (PUFA), in the Gulf of Ancud (a, b, c), Guafo (d, e, f), and Guamblin Islands (g, h, i) of southern hake females collected during the reproductive season in the Chilean Patagonia. The horizontal line corresponds to the average content; SE is the standard error; SD is the standard deviation; and dots are outliers

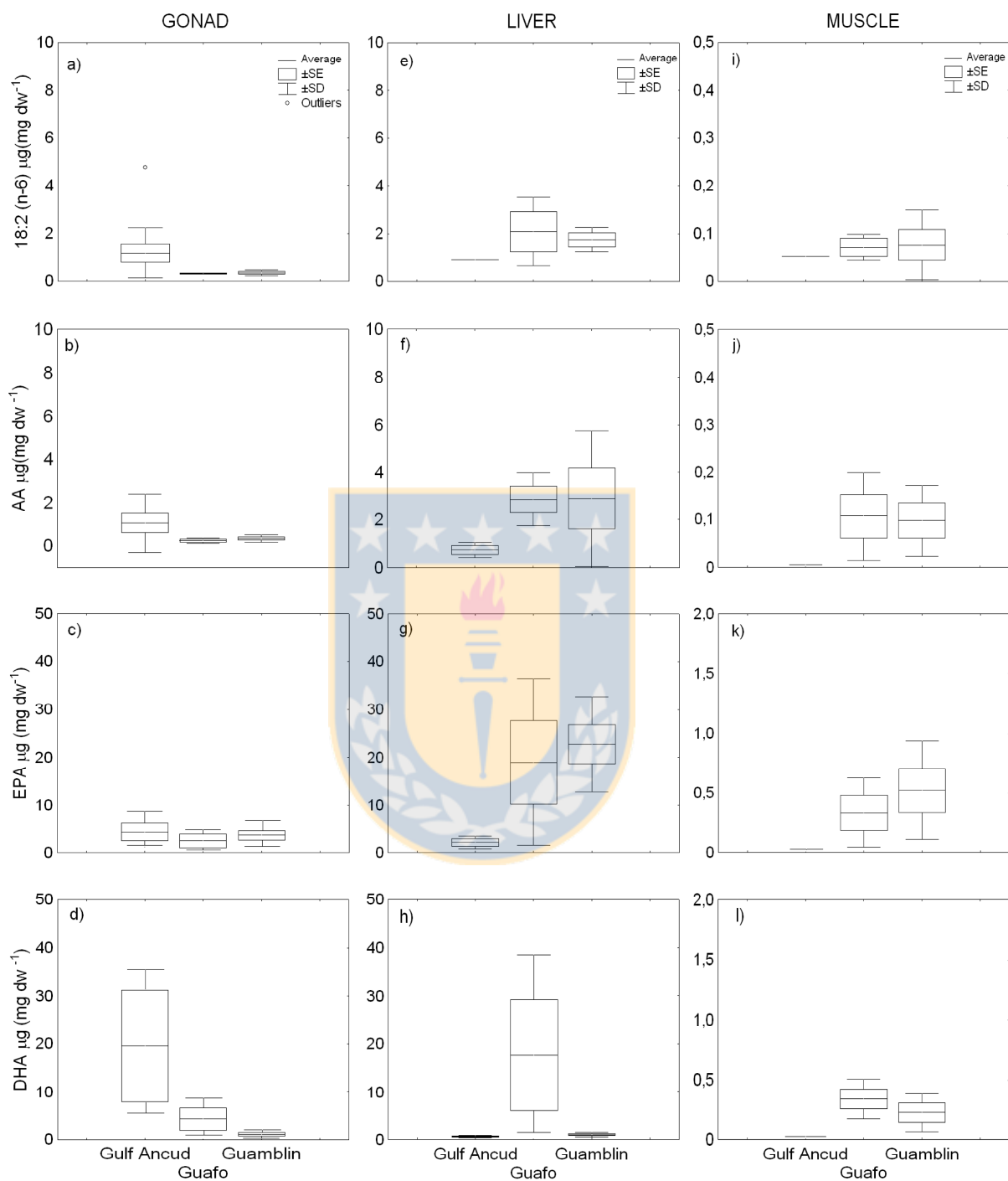


Figure 3 Boxplot of the fatty acid concentrations ($\mu\text{g mg dry weight}^{-1}$) of PUFAs 18:2(n-6), AA, EPA, and DHA in gonads (a, b, c, d), livers (e, f, g, h), and muscles (i, j, k, l) of

southern hake females collected during the reproductive season. The horizontal line corresponds to the average content; SE is the standard error; SD is the standard deviation; and dots are outliers

Table 1 Biological data (average \pm SD) of female southern hake from which tissue samples were collected during the winter spawning season in Chilean Patagonia

	Island		
	Gulf of Ancud	Guafo	Guamblin
Total Weight (g)	2983 \pm 807	6075 \pm 1699	7000 \pm 925
Total Length (cm)	74.5 \pm 6.59	91.5 \pm 8.95	90 \pm 3.55
IGS	6.04 \pm 2.68	8.1 \pm 1.38	9.8 \pm 2.51
Kc	0.67 \pm 0.07	0.71 \pm 0.79	0.87 \pm 0.09
Age (years)	11	18	17
Number fish sampled	9	4	6
Number tissues samples	3	3	3
Total number of analysed samples	27	12	18

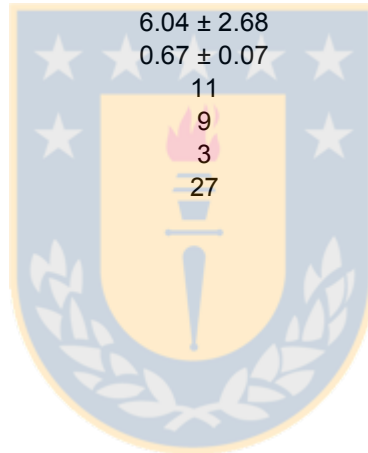


Table 2 Fatty acid composition ($\mu\text{g mg dry weight}^{-1}$ and %) in gonads, livers and muscles of southern hake females collected from a) Gulf of Ancud, b) Guafo and c) Guamblin Islands (average \pm SD)

a) Gulf of Ancud

Fatty acids	Gonad		Liver		Muscle	
	$\mu\text{g mg dw}^{-1}$	% dw	$\mu\text{g mg dw}^{-1}$	% dw	$\mu\text{g mg dw}^{-1}$	% dw
13:00	0.63 \pm 0.70	0.94 \pm 1.76	1.43 \pm 1.38	3.55 \pm 0.64	1.05 \pm 0.42	21.5 \pm 25.0
14:00	1.54 \pm 2.17	2.29 \pm 0.70	1.65 \pm 1.60	4.12 \pm 0.54	0.11 \pm 0.07	2.31 \pm 0.60
15:00	0.29 \pm 0.42	0.42 \pm 0.21	0.75 \pm 0.98	1.86 \pm 0.82	0,05	0,93
16:00	13.2 \pm 19.6	19.7 \pm 5.95	10.3 \pm 8.22	25.8 \pm 3.54	1.21 \pm 0.73	24.7 \pm 7.22
17:00	0.11 \pm 0.04	0.15 \pm 0.21	0.41 \pm 0.40	1.02 \pm 0.06	0.05 \pm 0.02	0.99 \pm 0.17
18:00	1.94 \pm 2.88	2.89 \pm 1.97	2.02 \pm 1.12	5.04 \pm 2.51	0.77 \pm 0.49	15.6 \pm 5.31
16:1(n-7)	5.57 \pm 7.95	8.27 \pm 2.18	4.35 \pm 3.76	10.8 \pm 1.46	0.15 \pm 0.08	2.97 \pm 0.76
17:1(n-8)	0.75 \pm 0.94	1.11 \pm 0.06	0,72	1,79	0,0000	0,0000
18:1(n-9)	9.91 \pm 13.1	14.7 \pm 3.98	6.69 \pm 6.15	16.6 \pm 0.33	0.46 \pm 0.27	9.46 \pm 2.43
18:1(n-7)	4.22 \pm 6.73	6.26 \pm 1.37	2.44 \pm 1.86	6.07 \pm 1.01	0.28 \pm 0.19	5.70 \pm 2.17
18:2(n-6)	1.14 \pm 1.62	1.68 \pm 0.17	0,9000	2,2400	0.05 \pm 0.01	1.05 \pm 0.01
20:1(n-9)	1.11 \pm 1.57	1.64 \pm 0.33	0.64 \pm 0.47	1.60 \pm 0.34	0,0600	1.16 \pm 0.19
20:4(n-6)	1.04 \pm 1.34	1.54 \pm 0.73	0.89 \pm 0.94	2.22 \pm 0.40	0,0000	0,0000
20:5(n-3)	4.38 \pm 5.61	6.50 \pm 4.40	2.43 \pm 3.28	6.05 \pm 2.96	0,0000	0,0000
22:1(n-9)	0.48 \pm 0.53	0.70 \pm 1.46	0.35 \pm 0.19	0.86 \pm 0.39	0.06 \pm 0.01	1.27 \pm 0.22
22:6(n-3)	19.5 \pm 34.8	29.0 \pm 13.0	0.82 \pm 0.33	2.05 \pm 1.26	0,0000	0,0000
22:1(n-11)	0.01 \pm 0.03	0.02 \pm 0.01	1.31 \pm 0.01	3,26100	0.47 \pm 0.55	9.57 \pm 9.50
24:1(n-9)	1.40 \pm 2.19	1.07 \pm 0.32	1.42 \pm 1.54	3.53 \pm 1.07	0,0000	0,0000
DHA/EPA	4.45 \pm 6.20	4.46 \pm 2.95	0.33 \pm 0.10	0.33 \pm 0.42	0,0000	0,0000
Σ^a SAFA	17.8 \pm 6.30	26.4 \pm 1.93	17.2 \pm 2.90	42.7 \pm 1.36	3.38 \pm 0.28	68.8 \pm 9.39
Σ^b MUFA	23.4 \pm 4.67	34.7 \pm 1.36	17.9 \pm 2.30	44.6 \pm 0.48	1.48 \pm 0.21	30.1 \pm 3.54
Σ^c PUFA	26.0 \pm 13.6	38.6 \pm 5.19	5.04 \pm 1.56	12.5 \pm 1.30	0.05 \pm 0.01	1.05 \pm 0.01

^a SAFA: 13:00, 14:00, 15:00, 16:00, 17:00, 18:00, 20:00

^b MUFA: 16:1(n-7), 17:1(n-8), 18:1(n-7), 18:1(n-9), 18:2(n-6), 20:1(n-9), 22:1(n-9), 22:1(n-11), 24:1(n-9)

^c PUFA: 18:2(n-6), 20:4(n-6), 20:5(n-3) y 22:6(n-3)

b) Guafó Island

Fatty acids	Gonad		Liver		Muscle	
	ug mg dw ⁻¹	% dw	ug mg dw ⁻¹	% dw	ug mg dw ⁻¹	% dw
13:00	0.24 ± 0.01	1.17 ± 0.15	0.57 ± 0.16	0.49 ± 0.11	0.38 ± 0.06	8.95 ± 2.09
14:00	0.57 ± 0.30	2.83 ± 0.58	5.41 ± 4.55	4.65 ± 4.27	0.07 ± 0.02	1.66 ± 0.67
15:00	0.20 ± 0.23	0.99 ± 5.79	0.98 ± 0.34	0.83 ± 0.59	0.02 ± 0.01	0.52 ± 0.13
16:00	3.93 ± 2.09	19.3 ± 8.26	17.9 ± 20.1	15.3 ± 10.1	1.15 ± 0.28	26.8 ± 7.80
17:00	0.06 ± 0.02	0.30 ± 0.05	0.48 ± 0.11	0.42 ± 0.26	0.03 ± 0.02	0.92 ± 0.55
18:00	0.64 ± 0.58	3.15 ± 0.96	5.26 ± 4.53	4.52 ± 8.20	0.56 ± 0.33	12.9 ± 7.22
16:1(n-7)	1.99 ± 0.95	9.81 ± 0.94	10.8 ± 13.7	9.35 ± 6.26	0.21 ± 0.07	5.03 ± 1.41
17:1(n-8)	0.12 ± 0.03	0.63 ± 1.30	2.00 ± 0.83	1.72 ± 0.56	0.02 ± 0.06	0.68 ± 0.03
18:1(n-9)	3.06 ± 1.69	15.1 ± 5.27	7.61 ± 9.21	6.54 ± 2.80	0.36 ± 0.19	8.49 ± 2.50
18:1(n-7)	1.30 ± 0.50	6.42 ± 5.21	12.6 ± 20.8	10.8 ± 9.90	0.3 ± 0.09	7.24 ± 2.80
18:2(n-6)	0.32 ± 0.02	1.56 ± 0.41	2.08 ± 1.43	1.79 ± 1.63	0.07 ± 0.02	1.64 ± 0.05
20:1(n-9)	0.62 ± 0.35	3.03 ± 2.66	8.77 ± 6.39	7.53 ± 5.92	0.18 ± 0.15	4.28 ± 1.94
20:4(n-6)	0.22 ± 0.01	1.13 ± 0.23	2.69 ± 1.31	2.31 ± 1.34	0.10 ± 0.09	2.47 ± 1.37
20:5(n-3)	2.42 ± 2.23	11.9 ± 5.03	18.9 ± 17.4	16.3 ± 17.5	0.33 ± 0.29	7.76 ± 4.81
22:1(n-9)	0.10 ± 0.04	0.48 ± 0.52	1.28 ± 1.15	1.10 ± 0.64	0.05 ± 0.03	1.26 ± 0.49
22:6(n-3)	4.30 ± 2.77	21.1 ± 4.36	17.9 ± 23.6	15.4 ± 12.4	0.33 ± 0.16	7.84 ± 4.79
24:1(n-9)	0,15000	0,7400	0.92 ± 1.43	0.79 ± 0.85	0.03	0.74
DHA/EPA	1.77 ± 1.24	1.77 ± 0.86	0.94 ± 1.35	0.94 ± 3.39	1.00 ± 0.55	1.01 ± 0.99
Σ ^a SAFA	5.68 ± 0.79	27.9 ± 3.51	30.6 ± 7.80	26.2 ± 3.87	2.27 ± 0.15	52.5 ± 3.51
Σ ^b MUFA	7.35 ± 0.63	36.2 ± 2.13	44.1 ± 7.58	37.8 ± 3.91	1.20 ± 0.07	27.7 ± 1.10
Σ ^c PUFA	5.05 ± 1.45	35.7 ± 2.54	41.8 ± 11.3	35.8 ± 8.16	0.85 ± 0.11	19.7 ± 2.42

^a SAFA: 13:00, 14:00, 15:00, 16:00, 17:00, 18:00, 20:00

^b MUFA: 16:1(n-7), 17:1(n-8), 18:1(n-7), 18:1(n-9), 18:2(n-6), 20:1(n-9), 22:1(n-9), 24:1(n-9)

^c PUFA: 18:2(n-6), 20:4(n-6), 20:5(n-3) y 22:6(n-3)

c) Guamblin Island

Fatty acids	Gonad		Liver		Muscle	
	ug mg dw ⁻¹	% dw	ug mg dw ⁻¹	% dw	ug mg dw ⁻¹	% dw
13:00	0.48 ± 0.11	1.56 ± 0.49	0.22 ± 0.07	0.15 ± 0.12	0.37 ± 0.05	7.68 ± 8.02
14:00	1.14 ± 0.05	3.73 ± 0.58	4.37 ± 1.20	3.05 ± 4.27	0.11 ± 0.11	2.22 ± 0.43
15:00	0.12 ± 0.05	0.38 ± 0.03	0.50 ± 0.12	0.35 ± 0.60	0,0200	0.35 ± 0.27
16:00	9.24 ± 4.36	29.9 ± 4.55	36.0 ± 8.6	25.2 ± 10.1	1.43 ± 1.31	29.4 ± 1.78
17:00	0.07 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.27 ± 0.07	0.19 ± 0.26	0.02 ± 0.01	0.35 ± 0.20
18:00	1.30 ± 0.73	4.23 ± 1.08	5.37 ± 1.67	3.76 ± 4.24	0.48 ± 0.44	9.94 ± 1.76
16:1(n-7)	4.39 ± 2.11	14.4 ± 2.74	18.3 ± 4.4	12.8 ± 6.26	0.36 ± 0.39	7.42 ± 2.05
17:1(n-8)	0.11 ± 0.07	0.34 ± 0.23	0.64 ± 0.23	0.45 ± 0.57	0.03 ± 0.02	0.55 ± 0.19
18:1(n-9)	5.53 ± 2.80	17.9 ± 2.04	24.9 ± 5.44	17.4 ± 8.20	0.53 ± 0.65	10.9 ± 2.97
18:1(n-7)	1.95 ± 1.35	6.31 ± 3.32	10.4 ± 3.10	7.29 ± 9.91	0.25 ± 0.26	5.15 ± 1.08
18:2(n-6)	0.34 ± 0.13	1.11 ± 0.35	1.75 ± 1.43	1.22 ± 1.63	0.08 ± 0.07	1.56 ± 0.57
20:1(n-9)	0.70 ± 0.42	2.28 ± 0.66	11.01 ± 12.8	7.70 ± 5.92	0.14 ± 0.20	2.97 ± 1.08
20:4(n-6)	0.33 ± 0.18	1.09 ± 0.57	2.97 ± 2.56	2.08 ± 1.35	0.10 ± 0.07	2.01 ± 0.29
20:5(n-3)	3.65 ± 2.59	11.84 ± 7.76	22.8 ± 17.4	15.9 ± 17.7	0.52 ± 0.42	10.7 ± 2.90
22:1(n-9)	0.12 ± 0.06	0.40 ± 0.10	1.23 ± 0.73	0.86 ± 0.64	0.06 ± 0.05	1.26 ± 0.71
22:6(n-3)	1.12 ± 0.86	3.65 ± 2.72	1.03 ± 23.6	0.72 ± 12.4	0.23 ± 0.16	4.63 ± 2.51
24:1(n-9)	0.05 ± 0.04	0.16 ± 0.08	0.08 ± 0.04	0.05 ± 0.86	0,0300	0.66 ± 0.10
DHA/EPA	0.30 ± 0.33	0.30 ± 0.35	0.04 ± 1.35	0.04 ± 0.70	0.44 ± 0.38	0.43 ± 0.86
Σ ^a SAFA	12.4 ± 1.41	40.4 ± 1.47	47.1 ± 3.12	32.9 ± 1.08	2.48 ± 0.45	51.2 ± 2.67
Σ ^b MUFA	12.8 ± 1.12	41.6 ± 1.36	66.6 ± 4.48	46.5 ± 1.93	1.40 ± 0.23	29.0 ± 2.67
Σ ^c PUFA	5.50 ± 1.01	17.9 ± 3.03	29.3 ± 4.07	20.4 ± 1.73	0.95 ± 0.16	19.7 ± 1.19

^a SAFA: 13:00, 14:00, 15:00, 16:00, 17:00, 18:00, 20:00, 22:00, 24:00

^b MUFA: 16:1(n-7), 17:1(n-8), 18:1(n-7), 18:1(n-9), 18:2(n-6), 20:1(n-9), 22:1(n-9), 24:1(n-9)

^c PUFA: 18:2(n-6), 18:2(n-9), 18:3(n-6), 20:4(n-6), 20:5(n-3) y 22:6(n-3)

Table 3 Fatty acid (%) fractions (SAFA, MUFA, PUFA) determined in southern hake tissues and from data reported in the literature for different species

Species	Fatty acid			Reference
	Gonad	Liver	Muscle	
¹ <i>Merluccius australis</i> Gulf of Ancud	PUFA>MUFA>SAFA% 38.6±5.1>34.7±1.3>26.4±1.9	MUFA>SAFA>PUFA% 44.6±0.4>42.7±1.3>12.5±1.3	SAFA>MUFA>PUFA% 68.8±9.3>30.1±3.5>1.05±0.01	In this study
Guafo	MUFA>PUFA>SAFA% 36.6±2.1>35.7±2.5>27.9±3.5	MUFA≈PUFA>SAFA % 37.8±3.9>35.8±8.1>26.2±3.8	SAFA>MUFA>PUFA% 52.5±3.5>27.7±1.1>19.7±2.4	
Guamblin	MUFA≈SAFA>PUFA% 41.6±1.3>40.4±1.4>17.9±3.03	MUFA>SAFA>PUFA% 46.5±1.9>32.9±1.0>20.4±1.7	SAFA>MUFA>PUFA% 51.2±2.6>29.0±2.6>19.7±1.1	
¹ <i>Merluccius capensis</i>	N.R	MUFA=SAFA>PUFA% 37.5±7.6=37.5±9.05>22.7±4.77	PUFA>SAFA>MUFA% 49.4±15.3.>27.8±7.5>21.8±5.45	Wessels & Spark, 1973
¹ <i>Merluccius paradoxus</i>	N.R	SAFA>PUFA>MUFA% 35.25±9.4>34.2±8.4>26.9±6.41	PUFA>SAFA>MUFA% 44.4±12.9.>29.5±8.7>24.4±5.29	Wessels & Spark, 1973
¹ <i>Clupea harengus pallasii</i>	N.R	PUFA>MUFA>SAFA % 49.9±0.7>25.3±1.8>20.6±0.9	MUFA>SAFA>PUFA% 46.5±5.2>28.7±3.1>23.0±2.4	M.D Huynh <i>et al.</i> , 2007
² <i>Sardina pilchardus</i>	PUFA>SAFA>MUFA % 52.3±13.3>49.3±12.5>23.4±12.0	N.R	PUFA>SAFA>MUFA % 62.2±18.9>57.7±17.9>37.7±15.8	Garrido <i>et al.</i> , 2007
³ <i>Sardinella aurita</i>	N.R	MUFA>SAFA>PUFA% 54.0±0.1>32.3±0.5>12.6±0.5	SAFA>MUFA>PUFA % 43.6±0.5>34.4±0.9>19.5±0.5	Njinkouè <i>et al.</i> , 2002
³ <i>Sardinella maderensis</i>	N.R	MUFA>SAFA>PUFA% 44.2±0.6>38.0±0.3>15.4±0.4	SAFA>MUFA>PUFA % 47.3±0.9>26.5±0.5>26.2±0.7	Njinkouè <i>et al.</i> , 2002
³ <i>Cephalopholis taeniops</i>	N.R	SAFA>MUFA>PUFA % 58.6±0.3>30.7±0.2>7.6±0.2	SAFA>MUFA>PUFA % 49.4±0.2>30.6±0.4>18.5±0.5	Njinkouè <i>et al.</i> , 2002

¹Data reported are species in the stage reproductive

² Data expressed in $\mu\text{m mg}^{-1}$ dry weight

³ Not indicated in the study stage reproductive of the species

N.R= Not reported

Table 4 Essential fatty acids (PUFA, %) DHA, EPA, and AA in southern hake tissues and from data reported in the literature for different species

Species	Fatty acids			Reference
	Gonad	Liver	Muscle	
¹ <i>Merluccius australis</i> Gulf of Ancud	DHA>EPA>AA % 29±13>6.5±4.4>1.5±0.7	EPA>DHA>AA % 6.05±2.96> 2.05±1.2> 2.22±0.4	N.R	In this study
Guafó	DHA>EPA>AA % 21±4.3>11.9±5.03>1.13±0.2	EPA>DHA>AA % 18.6±17.7> 13.9±12.4> 1.55±1.5	DHA>EPA>AA % 7.84±4.7> 7.7±4.8> 2.4±1.3	
Guamblin	EPA>DHA>AA % 11.4±7.7>3.65±2.7>1.09±0.5	EPA>AA>DHA % 15.9±17>2.08±1.3>0.72±2.4	EPA>DHA>AA % 10.7±2.9> 4.63±2.5> 2.01±0.2	
¹ <i>Merluccius capensis</i>	N.R	DHA>EPA>AA 11.79>7.07>1.36	DHA>EPA>AA 36.94>7.81>2	Wessels & Spark, 1973
¹ <i>Merluccius paradoxus</i>	N.R	DHA>EPA>AA 21.37>6.45>4	DHA>EPA>AA 31.35>9.03>2.63	Wessels & Spark, 1973
¹ <i>Clupea harengus pallasii</i>	N.R	DHA>EPA>AA % 32.1±0.5> 9.06±> 2.1±0.3	DHA>EPA>AA % 9.9±2.0> 7.5±1.2> 0.9±0.2	M.D Huynh <i>et al.</i> , 2007
² <i>Sardina pilchardus</i>	DHA>EPA>AA 27.8±5.8>13.4±4.3>1.9±0.4	N.R	DHA>EPA>AA 28.5±4.8> 18.0±9.4> 1.8±0.7	Garrido <i>et al.</i> , 2007
³ <i>Sardinella aurita</i>	N.R	EPA>DHA>AA % 1.8±0.1> 1.4±0.1> Tr	EPA>DHA>AA % 10.2±0.3> 2.5±0.3> Tr	Njinkouè <i>et al.</i> , 2002
³ <i>Sardinella maderensis</i>	N.R	DHA=EPA>AA % 4.8±0.1= 4.7±0.1> Tr	EPA>DHA>AA % 11.6±0.2> 6.9±0.2> Tr	Njinkouè <i>et al.</i> , 2002
³ <i>Cephalopholis taeniops</i>	N.R	EPA>DHA>AA % 1.6±0.1> 1.1±0.1> Tr	DHA>EPA>AA % 9.3±0.4> 4.8±0.1> Tr	Njinkouè <i>et al.</i> , 2002

¹ Data reported are species in the stage reproductive

² Data expressed in $\mu\text{m mg}^{-1}$ dry weight

³ Not indicated in the study stage reproductive of the species

N.R= Not reported

CAPÍTULO II

Análisis de Ácidos grasos en Crustáceos de la zona de Aguas interiores

Introducción

La dieta principal de Merluza austral es merluza de cola (*Macruronus magellanicus*) en ambas zonas (exterior e interior), es habitual además, encontrar en peces de aguas exteriores a presas como merluza de tres aletas y mictófidios. En cambio, la dieta de la merluza austral en aguas interiores registra mayor participación de crustáceos, especialmente del camarón (*Pasiphaea dofleini*); el resto de las presas identificadas representa menos del 1,5% (Lillo *et al.*, 2004; Lillo *et al.*, 2011). Al respecto, y considerando el consumo de crustáceos en la dieta, se analizaron crustáceos de aguas interiores como *Munida* sp y eufáusidos, debido a su dominancia en la zona. *Munida* sp constituye uno de los grupos de crustáceos de mayor abundancia en canales y fiordos australes (Mujica & Villablanca, 2003), se distribuye hasta los 200 metros de profundidad (Rodríguez & Bahamondes, 1986). Su alimentación es omnívora, compuesta principalmente de crustáceos, microalgas como diatomeas, foraminíferos y radiolarios (Pérez-Barros *et al.*, 2010). Los eufáusidos, por otro lado, consumidores de diatomeas y especie dominante en los fiordos (Palma & Silva, 2004), han sido identificados como componente importante en la dieta de muchos depredadores tales como peces, calamares y ballenas constituyendo un enlace entre la producción fitoplanctónica y niveles superiores (Antezana, 1978; Linacre & Palma, 2004). Acorde a lo anterior, en este capítulo se identifican los ácidos grasos presentes *Munida* sp. (juveniles de la columna de agua) y en eufáusidos colectados en en aguas interiores.

Resultado

De las muestras de eufausidos sp (probablemente *Euphausia vallentini* por ser dominante en la zona) obtenidas del plancton en primavera del 2010, indicaron valores de concentración de ácidos grasos (AG) en un rango de 0.03 – 5.05 µg/mg. Del muestreo

desarrollado en *Munida* sp, valores de concentración de AG van en un rango de 0.02 – 5.09 µg/mg. En ambos casos se identificaron ácidos grasos desde el carbono 13:00 hasta el 22:6(n-3).

En eufáusidos, la contribución (%) de los distintos grupos de AG fue PUFA > SAFA > MUFA. Los AG más abundantes entre los ácidos grasos saturados (SAFA) fueron el ácido palmítico (16:00) y ácido graso esteárico (18:00). Entre los ácidos grasos monoinsaturados (MUFAS) se destacaron ácido palmitoleico (16:1(n-7)), ácido vaccénico (18:1(n-7)) y ácido oleico (18:1(n-9)). En los ácidos grasos polinsaturados (PUFA), destacaron el ácido graso docosahexaenoico (DHA, 22:6(n-3)) y el ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5(n-3)) (Tabla 5). La relación DHA/EPA en eufáusidos de aguas interiores indicó predominio de diatómeas.

En *Munida* sp, la contribución (%) de los distintos grupos de AG fue SAFA > MUFA > PUFA. Los AG más abundantes entre los ácidos grasos saturados (SAFA) fueron el ácido palmítico (16:00), ácido merístico (14:00) y ácido graso esteárico (18:00). Entre los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) se destacaron ácido palmitoleico (16:1(n-7)), ácido vaccénico (18:1(n-7)) y ácido oleico (18:1(n-9)). En los ácidos grasos polinsaturados (PUFA), destacó el ácido graso docosahexaenoico (DHA, 22:6(n-3)) (Tabla 5). La proporción de DHA / EPA ≥ 1 indica el predominio de dinoflagelados sobre diatomeas en la base de trama trófica y DHA / EPA ≤ 1 de diatomeas (Budge & Parrish, 1998); la relación DHA/EPA en *Munida* colectadas en la zona de aguas interiores indicó predominio de dinoflagelados.

Ácidos grasos (22:1(n-11) y 20:1(n-11)) relacionados estructuralmente ocurrieron en los tres tejidos de ácidos grasos y crustáceos, estos comparten el mismo el número de dobles enlaces (n-11) y posición (1) diferenciándose solo en el número de carbonos de 20 a 22 carbonos. En ninguno de los tejidos de hembras de merluza austral de agua exteriores se detectó estos 2 ácidos grasos (Fig. 4).

Discusión

Es ampliamente conocido que biomarcadores lipídicos (ácidos grasos) son incorporados en peces a partir de la ingesta de alimento y que éstos pueden ser reconocidos en sus tejidos. En esta investigación se han identificado dos ácidos grasos monoinsaturados (22:1(n-11) y 20:1(n-11)) en los diferentes tejidos de merluza austral y crustáceos de aguas interiores. Huynh *et al.* (2007) han reportado en tejidos del arenque el AG 22:1(n-11) en período reproductivo. Estos ácidos grasos se han asociado al zooplancton, específicamente a copépodos (Graeve *et al.*, 1994). De acuerdo a Tocher (2003), la presencia del ácido graso 22: 1(n-11) se debe a la oxidación del AG 20: 1 y 22: 1 proveniente de los alcoholes grasos predominantes de los lípidos de copépodos calanoideos. Consecuentemente, la presencia de 22: 1(n-11) en tejidos merluza austral se debe a la ingesta de crustáceos como *Munida* sp. que a su vez, habrían ingerido copépodos.

Tabla 5 Composición de ácidos grasos en crustáceos *Munida* sp (n=3) y eufáusido sp (n=4)

Ácidos grasos	Crustáceos <i>Munida</i>		Crustáceos Eufáusidos	
	µg mg dw ⁻¹	%dw	µg mg dw ⁻¹	%dw
13:00	0.39 ± 0.20	1.98 ± 0.15	0.47 ± 0.68	2.02 ± 1.31
14:00	1.14 ± 0.40	5.82 ± 0.80	0.99 ± 0.74	4.25 ± 2.26
15:00	0.12 ± 0.05	0.65 ± 0.06	0.18 ± 0.02	0.81 ± 0.36
16:00	5.09 ± 2.03	25.9 ± 2.65	5.05 ± 3.22	21.6 ± 9.81
17:00	0.10 ± 0.04	0.50 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.67 ± 0.28
18:00	1.97 ± 0.53	4.94 ± 0.52	1.04 ± 0.69	4.47 ± 2.03
20:00	0.08 ± 0.03	0.44 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.58 ± 0.25
16:1(n-7)	2.56 ± 1.40	13.0 ± 2.70	2.19 ± 1.95	9.42 ± 3.96
18:1(n-9)	1.97 ± 0.97	10.0 ± 1.32	1.85 ± 1.85	7.95 ± 4.19
18:1(n-7)	1.40 ± 0.65	7.11 ± 1.77	1.06 ± 0.89	4.56 ± 2.92
18:2(n-6)	1.07 ± 1,28	5.44 ± 3.60	0.353	1.51 ± 2.42
18:3 (n-6)	0.073	0.00	0.000000	0.000000
18:4(n-3)	0.03 ± 0.01	0.16 ± 0.05	0.000000	0.000000
20:1(n-9)	0.10 ± 0.04	0.53 ± 0.13	0.09 ± 0.09	0.38 ± 0.38
20:4(n-6)	0.32 ± 0.13	1.62 ± 0.24	0.46 ± 0.18	1.99 ± 0.83
20:5(n-3)	0.80 ± 0.93	4.08 ± 3.00	4.86 ± 2.94	20.8 ± 12.9
20:1(n-11)	0.02 ± 0.06	0.10 ± 0.01	0.03 ± 0.04	0.14 ± 0.03
22:6(n-3)	3.29 ± 2.07	16.7 ± 6.37	4.23 ± 2.85	18.1 ± 8.30
22:1(n-9)	0.10 ± 0.05	0.52 ± 0.04	0.14 ± 0.03	0.63 ± 0.27
DHA/EPA	4.11 ± 0.95	4.09 ± 2.78	0.87 ± 0.97	0.87 ± 0.64
Σ ^a SAFA	7.98 ± 0.71	40.2 ± 0.95	8.04 ± 1.16	34.4 ± 3.40
Σ ^b MUFA	6.15 ± 0.58	31.1 ± 1.12	5.38 ± 0.91	23.0 ± 1.95
Σ ^c PUFA	5.51 ± 0.85	28.3 ± 3.28	9.91 ± 1.56	42.4 ± 5.30

^aSAFA: 13:00, 14:00, 15:00, 16:00, 17:00, 18:00, 20:00

^bMUFA: 16:1(n-7), 18:1(n-7), 18:1(n-9), 20:1(n-9), 20:1(n-11), 22:1(n-9)

^cPUFA: 18:2(n-6), 18:3(n-6), 18:4(n-3), 20:4(n-6), 20:5(n-3), 22:6(n-3)

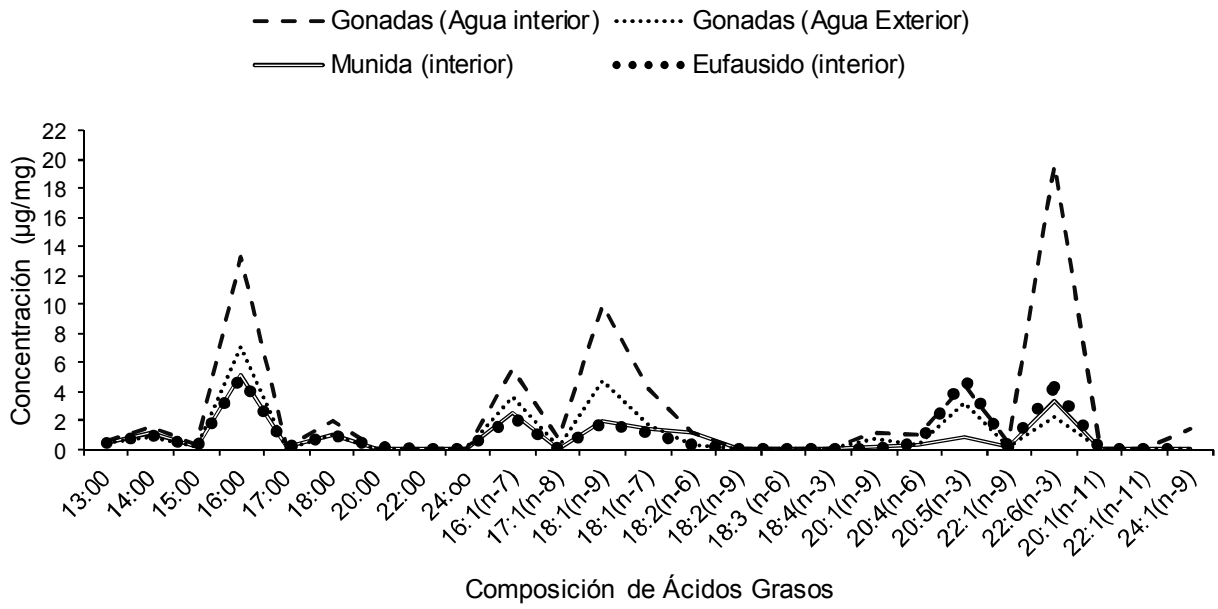


Figura 4 Comparación de crustáceos y tejido gonadal de agua interior y exterior



DISCUSIÓN GENERAL

Los reportes de patrones migratorios propuestos por Céspedes *et al.* (1996) y Rubilar *et al.* (1999), indicaron migración de merluza austral para efectos de alimentación desde aguas exteriores a interiores y luego hacia aguas exteriores para efecto de reproducción. Además, existen reportes de presencia de huevos de merluza austral en aguas interiores (Bustos *et al.*, 2007). Con lo anterior se genera la inquietud de conocer si hembras residentes de aguas interiores podrían ser las desovantes o serían hembras que ingresarían después a desovar en aguas exteriores hacia aguas interiores, conociendo que el área de desove descrita para merluza austral está cercana a las Islas Guafo y Guamblin (Balbontín & Bravo, 1993). A partir de los antecedentes mencionados anteriormente sobre la dinámica de la merluza en la Patagonia Chilena, se genera el interés de buscar nuevas herramientas de análisis que no sean las tradicionales como genética, parásitos o composición elemental de otolitos. En este estudio se utilizó análisis de ácidos grasos, porque es capaz de integrar escalas de tiempo más pequeñas (semanas) y/o requieren menos conocimientos previos no existentes para esta especie comparado con otras herramientas. El uso de AG considera la identificación y utilización de biomarcadores lipídicos transferibles a partir de la dieta ingerida desde la presa al consumidor (Dalsgaard, 2003). El uso de esta herramienta se espera permita visualizar posibles migraciones de la especie objetivo, merluza austral, a través de la presencia de biomarcadores presentes en la dieta en distintas zonas (por ejemplo, entre aguas interiores y exteriores). Acorde a lo anterior, en ésta investigación se describió la composición de ácidos grasos en diferentes tejidos en merluza austral en el período reproductivo colectadas desde áreas de desove exterior e interior y, adicionalmente, se determinó la composición de AG en crustáceos, presas consumida por merluza austral en aguas interiores (Lillo *et al.*, 2011).

Los peces se han clasificado en función a su contenido lipídico de los músculos, entre éstos conocemos los peces magros y peces grasos. Los peces grasos, como Clupeiformes (por ejemplo *Clupea harengus pallasii* y *Sardina pilchardus*) acumulan lípidos y ácidos grasos en el tejido muscular (Huynh *et al.*, 2007; Garrido *et al.*, 2007). Alternativamente, peces

Gadiformes tales como merluza, bacalao y eglefino son considerados peces magros y su contenido de lípidos en el músculo es menor al 1% (Wessels & Spark 1973; Zeng *et al.*, 2010). Nuestros resultados en merluza austral mostraron concentraciones de ácidos grasos bajos en tejido muscular y mayor en el hígado, coincidiendo con los demás gadidos reportados a la fecha.

Los AG más abundantes en SAFA y MUFA en merluza austral fueron 16:00 (ácido palmítico) y 18:1(n-7) (ácido vaccénico), 18:1 (n-9) (ácido oleico), y entre los PUFA fueron 20:5(n-3) (EPA) y 22:6(n-3) (DHA). El ácido palmítico varió entre 15 y 30% en merluza austral, estos resultados coinciden con los reportados por Wessels & Spark (1973) en *M. capensis* y *M. paradoxus* en sus tejidos (músculo y hígado), especies en las que se determinó a éste AG como el más abundante. La importancia del ácido palmítico ha sido indicada como una fuente de energía metabólica en los peces durante el crecimiento y en particular durante la etapa de formación de huevos en hembras (Henderson *et al.*, 1984). Entre los MUFA, la fracción más alta correspondió al ácido oleico 18:1 (n-9) que osciló entre 6 y 16% en los tres tejidos analizados en hembras de la Isla Guafo; estos contenidos fueron similares a los reportados para *Clupea harengus pallasii*, en hembras en etapa reproductiva (Huynh *et al.*, 2007). Los peces que se encuentran en etapa reproductiva requieren de ácido oleico para el metabolismo energético durante el desarrollo de las gónadas. Se ha estimado que alrededor del 40% de los depósitos de grasa se transfieren a los ovarios y huevos durante la reproducción en el capelán en etapa de madurez (Henderson *et al.*, 1984).

Entre los PUFA, el DHA y EPA fueron los AG más abundantes en todos los tejidos. La alta proporción de DHA y EPA en los tejidos de hembras sugieren la importancia de ellos, sobre todo para el desarrollo embrionario, supervivencia larval y posterior reclutamiento (Bell & Sargent 2003; Domínguez-Petit *et al.*, 2010). Las proporciones de los ácidos grasos esenciales EPA, DHA y AA en merluza austral variaron entre tejidos. Si comparamos los resultados con los de otros Gadiformes, estos PUFA se encontraron dentro de los rangos reportados para otros peces (Tabla 3). Sin embargo, las proporciones de EPA y DHA en distintos tejidos varían entre especies. Contrariamente, en todas las especies AA fue

siempre el que se presentó en menor proporción en todos los tejidos y en todas las especies, incluidos Clupeiformes.

El uso de ácidos grasos como biomarcadores en diferentes hábitats

Con el fin de determinar si existían diferencias en la composición de AG entre hembras colectadas en aguas interiores y exteriores, se analizaron los distintos grupos de ácidos grasos (SAFA, MUFA, PUFA) y algunos AG potencialmente indicadores de la dieta. En primer lugar, se observaron diferencias en las concentraciones de AG entre los tejidos de hembras en aguas interiores y exteriores. Los tejidos que mostraron altas concentraciones de AG difieren entre localidades. El tejido hepático mostró la mayor concentración de AG en hembras de aguas exteriores, mientras que las gónadas de hembras de aguas interiores contenían la mayor concentración de AG. En segundo lugar, entre los PUFA, las concentraciones de DHA en gónadas fueron mayores en aguas interiores que exteriores. Por el contrario, el DHA en hígado y músculo fue mayor en aguas exteriores que interiores. En tercer lugar, el EPA aumentó en el hígado y músculo desde aguas interiores al exterior. Por último, la relación de DHA/EPA disminuyó en las gónadas desde aguas interiores a exteriores.

La composición de ácidos grasos y sus proporciones pueden variar de acuerdo a factores fisiológico tales como edad, tamaño, madurez sexual y fuente de alimento (Wessels & Spark 1973; Ackman, 1989). Durante el desove, los peces invierten una cantidad considerable de energía lo que conlleva a una disminución de la proporción de los ácidos grasos en comparación con etapas no reproductivas (e.g. en *S. pilchardus*, Garrido *et al.*, 2007). En el presente estudio todas las hembras de merluza analizadas se encontraban en la misma etapa de reproducción y por consiguiente, las diferencias entre las diferentes áreas no pueden ser atribuidas a la etapa reproductiva. Sin embargo, los valores del tamaño corporal, peso e IGS fueron mayores en hembras de aguas exteriores, un patrón que se había observado en esta zona junto con otras diferencias en aspectos biológicos como factor de condición y fecundidad (Lillo *et al.*, 2005, 2008, 2009, 2011). Los resultados de AG en el presente estudio, también mostraron diferencias en las concentraciones de AG en los

tejidos entre los individuos colectados desde aguas interiores y exteriores, sugiriendo ambos tipos de evidencia (la biología de las hembras y los AG) que grupos distintos de peces han residido en cada zona durante varias semanas durante fines de invierno.

Las variaciones en la composición de AG en peces colectados en los diferentes lugares son el resultado de la ingestión de presas que son parte de las redes alimentarias basadas en diferentes productores primarios en cada localidad. La relación $DHA/EPA \geq 1$ indica el predominio de cadenas alimentarias basado en dinoflagelados y la relación $DHA/EPA \leq 1$ se asocia a cadenas en base a diatomeas (Budge & Parrish 1998). En el presente estudio, los valores más altos de EPA se registraron en el hígado de las hembras de aguas exteriores y las proporciones de DHA/EPA (%) disminuyeron en las gónadas de hembras desde aguas interiores (4.46 ± 2.95) hacia el exterior (0.30 ± 0.35) lo que sugiere que las tramas alimentarias estarían basadas en el consumo de dinoflagelados en aguas interiores y en diatomea al exterior. Estudios previos en los canales y aguas interiores de la Patagonia han reportado la dominancia de una red trófica microbiana (bacterias, ciliados, flagelados) durante el invierno y de diatomeas en primavera (González *et al.*, 2011). Más al norte, frente a Chile central, se han detectado valores elevados de EPA en huevos de pequeños peces pelágicos durante la temporada invernal donde diatomeas y grandes copépodos herbívoros calanoideos fueron dominantes en algunos años, mientras que valores bajos de EPA se señalaron en las temporadas invernales más cálidas cuando dinoflagelados y pequeños copépodos ciclopoideos omnívoro-detritívoros aumentaron en abundancia (Castro *et al.*, 2010). Otros reportes con diferencias en la composición de AG en tejidos de peces entre localidades y temporadas incluyen a organismos en ecosistemas de agua dulce así como agua marina. En peces como la perca blanca e invertebrados en el lago Michigan, se han señalado variaciones estacionales en la composición de AG, así como entre la costa y mar afuera, resultado con que se pudo inferir posibles migraciones entre lugares dentro del lago (Czesny *et al.*, 2011). En especies de Gádidos como el bacalao del Báltico, han ocurrido cambios en el período de mayor desove durante la temporada reproductiva que se han atribuido variaciones en la disponibilidad y dominancia de presas (arenque, spratus e isópodos) en diferentes lugares, los que pudieron ser revelados a través de la composición de AG en los tejidos de bacalao (Røjbek *et al.*, 2012).

Composición lipídica en tejido gonadal de merluza austral, su alimentación y potencial transferencia a huevos determinada a partir de biomarcadores específicos

A partir de muestras de plancton colectadas en primavera del 2010 desde el Seno de Reloncaví (41° L.S), se separó huevos de merluza austral para analizar su composición de ácidos grasos. Los resultados de los análisis de AG fueron claros, sin embargo, el número de huevos analizados fue relativamente bajo (una muestra de 20 huevos) por lo que se recomienda aumentar el número de muestras de huevos en la zona interior así como también coleccionar huevos desde la zona exterior para corroborar los siguientes resultados y afianzar las interpretaciones.

Los resultados de los análisis de AG en huevos colectados en aguas interiores indicaron valores de concentración en un rango de 0.008 – 6.86 µg/mg, desde el carbono 13:00 hasta el 22:6(n-3). La contribución porcentual de los grupos de AG fue SAFA > PUFA > MUFA. Las mayores concentraciones de AG entre los SAFA fueron el ácido tridecanoico (13:00), ácido palmítico (16:00) y ácido graso esteárico (18:00). Entre los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) las concentraciones no superaron 1 µg/mg. Entre los PUFA destacaron con mayores concentraciones el ácido graso docosahexaenoico (DHA, 22:6(n-3)) y ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5(n-3)). La relación DHA/EPA en huevos fue > 1 sugiriendo que en la trama trófica predominaron dinoflagelados (Tabla 6). Al comparar todos los muestreos realizados en aguas interiores a través de marcadores específicos y siguiendo la señal de la alimentación, se observó el AG (22:1(n-11)) en todos los tejidos de hembras de merluza austral, en crustáceos (*Munida* sp y eufáusidos) y, en huevos el 20:1(n-11). Altas concentraciones de alcoholes grasos se han identificado en crustáceos (copepodos) los cuales serían oxidados metabólicamente en los peces transformándolos a ácidos grasos monoinsaturados tales como (22:1(n-11)) y (20:1(n-11)) (Scott *et al.*, 2002).

En resumen, los resultados y seguimiento de biomarcadores lipídicos en el presente estudio indican diferencias en las proporciones de AG en tejidos de merluza austral entre zonas, señalan que merluza austral en aguas interiores habría consumido crustáceos tales como *Munida* y eufáusidos, y que estos biomarcadores pudieron ser traspasados hacia los huevos

de merluza. Debido a que el proceso de acumulación de estos biomarcadores en tejidos de hembras y posterior traspaso a los huevos debería ser de una duración de varias semanas (o pocos meses), los resultados aca descritos darían un indicio de que los huevos pudieron provenir de hembras residentes durante ese periodo de tiempo en zonas de aguas interiores. Los datos generados reportados en este estudio constituyen el primer reporte de ácidos grasos en tejidos de hembras en merluza austral, en crustáceos del género *Munida*, en eufáusidos y en huevos de merluza austral de la Patagonia La información generada a partir de esta data en distintas zonas de la patagonia (eg. aguas interiores, aguas exteriores), se espera, permita fortalecer las bases conceptuales sobre las cuales se sustenta el conocimiento actual de la estructura poblacional de merluza del sur en la zona sur de Chile.



Tabla 6 Composición de ácidos grasos en huevos (n=20) de merluza austral colectados en aguas interiores

Huevos de merluza austral		
Ácidos grasos	$\mu\text{g mg dw}^{-1}$	%dw
13:00	6.869	37.827
14:00	0.208	1.145
15:00	0.073	0.400
16:00	2.626	14.461
17:00	0.084	0.464
18:00	2.083	11.470
20:00	0.078	0.431
16:1(n-7)	0.620	3.416
17:1(n-8)	0.144	0.794
18:1(n-9)	0.967	5.327
18:1(n-7)	0.449	2.472
18:2(n-6)	0.099	0.543
20:1(n-9)	0.102	0.563
20:4(n-6)	0.147	0.811
20:5(n-3)	1.117	6.149
22:1(n-9)	0.068	0.372
22:6(n-3)	2.418	13.314
20:1(n-11)	0.008	0.041
DHA/EPA	2.165	2.165
Σ^a SAFA	12.02	66.19
Σ^b MUFA	2.36	12.98
Σ^c PUFA	3.78	20.82

^aSAFA: 13:00, 14:00, 15:00, 16:00, 17:00, 18:00, 20:00

^bMUFA: 16:1(n-7), 17:1(n-8), 18:1(n-7), 18:1(n-9), 20:1(n-9), 20:1(n-11), 22:1(n-9)

^cPUFA: 18:2(n-6), 20:4(n-6), 20:5(n-3), 22:6(n-3)

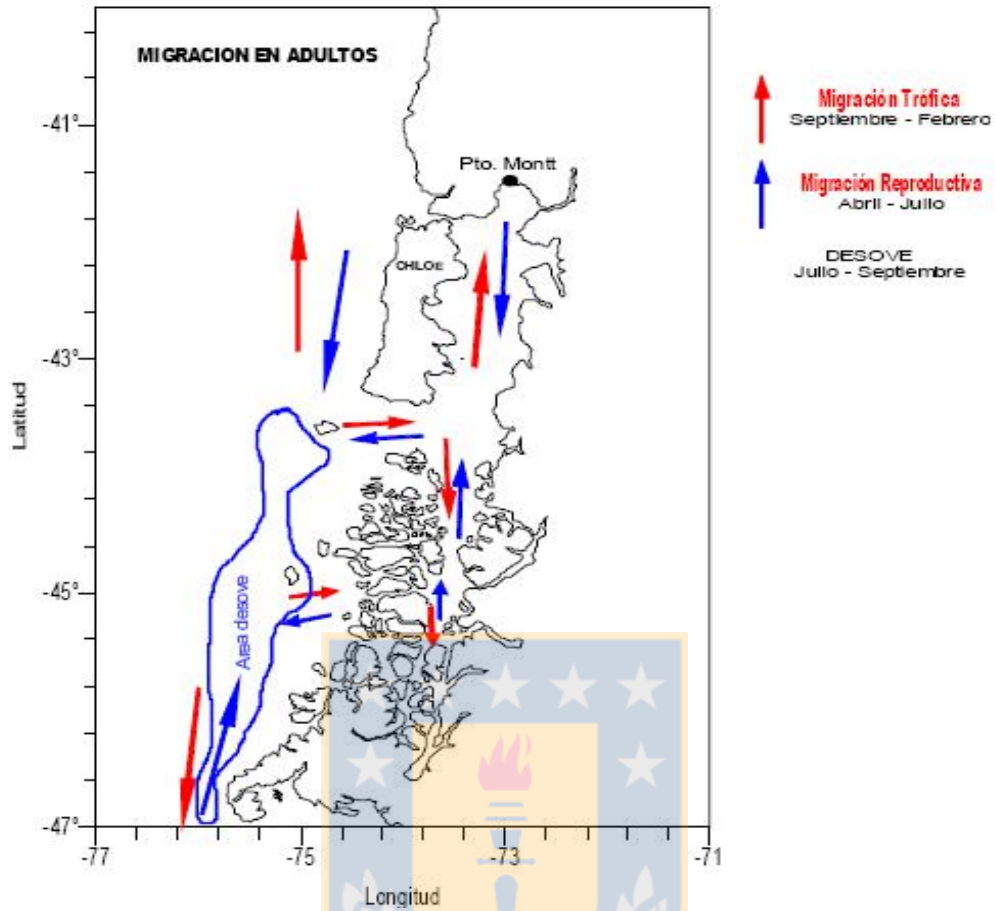


Figura 5 Esquema del patron migratorio de Merluza austral entre aguas interiores y exteriores de la X y XI propuesta por Céspedes *et al.* (1996)

BIBLIOGRAFÍA

Ackman, RG. 1989. Nutritional composition of fats in seafoods. Prog in food and Nutr Sci 13, 161-241.

Alfaro, A., Thomas, F., Sergent, L., Duxbury, M. 2006. Identification of trophic interactions within an estuarine food web (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. Est Coast Shelf Sci 70, 271-286.

Alfaro, A. 2008. Diet of *Littoraria scabra*, while vertically migrating on mangrove trees: Gut content, fatty acid, and stable isotope analyses. Est Coast Shelf Sci 79, 718–726.

Antezana, T. 1978. Distribution of euphausiids in the Chile-Perú Current with particular reference to the endemic *Euphausia mucronata* and the Oxygen Minimum Layer. Ph. D. Dissertation, San Diego. Scripps Institution of Oceanography, University of California, San Diego, 465 pp

Balbontín, F., Bernal, R. 1997. Distribución y abundancia del ictioplancton en la zona austral de Chile. Cienc Tecnol Mar 20,155-163.

Balbontín, F., Bernal, R. 2005. Seasonal changes in the composition and abundance of the ichthyoplankton of the austral channels from Corcovado Gulf and Elefantes Gulf, Chile. Cienc Tecnol Mar. 28, 99-111.

Balbontín, F., Córdova, G. 2003. Áreas de retención de larvas de peces en los canales ubicados al occidente del Canal Moraleda, Chile (43°39'- 45°49' Lat. Sur). In: Libro de resúmenes Taller sobre los resultados del Crucero CIMAR 8 Fiordos. Valparaíso, 69-73.

Balbontín, F., Bravo, R. 1993. Fecundidad, talla de la primera madurez sexual y datos biométricos en la merluza del Sur (*Merluccius australis*). Rev Biol Mar 28, 111-132.

Bell, J., Farndale, B., Bruce, M., Navas, J & Carillo, M. 1997. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid composition of egg from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 149, 107-119.

Bell, JG & Sargent, JR. 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture* 218,491– 499.

Bustos, C., Balbontín, F., Landaeta, M. 2007. Spawning of the southern hake *Merluccius australis* (Pisces: Merlucciidae) in Chilean fjords. *Fish Res* 83, 23-32.

Budge, SM & Parrish, CC. 1998. Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland II. Fatty acids. *Org Geochem* 29, 1547-1559.

Blume, E., Bischoff, M., Reichert, J.M., Moorman, T., Konopka, A., Turco, R. 2002. Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Appl Soil Ecol* 20,171-181.

Castro, L.R., Claramunt, G., González, H., Krautz, M., Llanos-Rivera, A., Méndez, J., Schneider, W., Soto, S. 2010. Fatty acids in anchoveta eggs, *Engraulis ringens*, during two contrasting winter spawning seasons. *Mar Ecol Prog Ser* 420,193–205.

Céspedes, R., Adasme, L., Reyes, H., Braun, M., Figueroa, E., Valenzuela, V., Ojeda, V., Roa, R. 1996. Identificación de area de reclutamiento de merluza del sur en la zona sur austral. Informe Técnico FIP-IT/ 1996, 145pp.

Chong, J., Aguayo, M., Payá, I. 2007. Determination of age, growth and natural mortality of Chilean hoki, *Macruronus magellanicus*, Lönnberg, 1907 (Macruronidae, Gadiformes) from the Southeastern Pacific Ocean. *Rev Biol Mar Oceanogr* 42, 311– 333.

Czesny, S., Rinchar, J., Hanson, J.D., Dettmers, M., Dabrowski, K., 2011. Fatty acid signatures of Lake Michigan prey fish and invertebrates: among-species differences and spatiotemporal variability. *Can J Fish Aquat Sci* 68, 1211–1230.

Christie, W. 1989. The preparation of derivatives of fatty acids. 36-39. In W.W Christie, (eds) *Gas Chromatography and Lipids: a Practical Guide*. The Oily Press. Scotland.

Dalsgaard, J., St. John, M., Kattner, G., Muller-Navarra, D., Hagen, W. 2003. Advances in Marine Biology. Fatty acid trophic Markers in the Pelagic Marine Environment. *Adv Mar Biol* 46. 225-340.

Dominguez-Petit, R., Saborido-Rey, F., Medina, I. 2010. Changes of proximate composition, energy storage and condition of European hake (*Merluccius merluccius*, L.1758) through the spawning season. *Fish Res* 104,73–82.

Garrido, S., Rosa, R., Ben-Hamadou, R., Cunha, M.E., Chicaro, M.A., Van der Lingen, C.D. 2007. Effect of maternal fat reserves on the fatty acid composition of sardine (*Sardina pilchardus*) oocytes. *Comp Biochem Physiol B* 148, 398-409.

González, H.E., Castro, L.R., Daneri, G., Iriarte, J.L., Silva, N., Vargas, C.A., Giesecke, R. Sánchez, N. 2011. Seasonal plankton variability in Chilean Patagonia fjords: Carbon flow through the pelagic food web of Aysen Fjord and plankton dynamics in the Moraleda Channel basin. *Cont Shelf Res* 31,225-243.

Graeve, M., Kattner, G., Hagen, W. 1994. Diet induced changes in the fatty acid composition of arctic herbivorous copepods: experimental evidence of trophic markers. *J Exp Mar Biol Ecol* 182, 97-110.

Henderson, R.J., Sargent, J.R., Hopkins, C.C. 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. *Mar Biol* 78, 255-263.

Huynh, M.D., Kitts, D., Hu, C. Trites, A. 2007. Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. Comp Biochem Physiol B 146, 504-511.

Lasker, R & Theilacker, G. 1962. Fatty acid composition of the lipids of some Pacific sardine tissues in relation to ovarian maturation and diet. J Lipid Res 3,60-64.

Linacre, L., Palma, S. 2004. Variabilidad espacio temporal de los eufáusidos frente a la costa de Concepción, Chile. Invest Mar Valparaíso, 32, 19-32.

Lillo, S., Céspedes, R., Saavedra, A., Barbieri, M., Gálvez, P. 2004. Programa temporal de evaluación hidroacústica de merluza del sur en aguas interiores de la X y XI Regiones año 2002. Informe Técnico FIP-IT/2002-07, 101 pp.

Lillo, S., Céspedes, R., Ojeda, V., Saavedra, A., Barbieri, M., Galvez, P. 2005. Evaluación del stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral año 2004. Informe Técnico FIP-IT/2004-07, 109 pp.

Lillo, S., Molina, E., Ojeda, V., Céspedes, R., Adasme, L., Rojas, Patricia., Molina, E., Rojas, M., Saavedra, A. 2008. Evaluación del Stock desovante de merluza del sur en aguas exteriores año 2007. Informe Técnico FIP-IT/2007-12, 85pp.

Lillo, S., Molina, E., Ojeda, V., Céspedes, R., Muñoz, Lisandro., Hidalgo, H., Hunt, Karen., Adasme, L., Balbontín, F., Bravo, R., Molina, E., Rojas, M., Meléndez, R., Saavedra, A. 2009. Evaluación de stock desovante de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral, año 2008. Informe Técnico FIP-IT/ 2008-11, 113pp

Lillo, S., Molina, E., Ojeda, V., Céspedes, R., Hunt, K., Hidalgo, H., Balbontín, F., Bravo, R., Meléndez, R. 2011. Pesca de Investigación Evaluación de stock de merluza del sur y merluza de cola en la zona sur austral año 2010. SUBPESCA 61pp.

Loh, A., Canuel, E., Bauer, J. 2008. Potential source and diagenetic signatures of oceanic dissolved and particulate organic matter as distinguished by lipid biomarker distributions. *Mar Chem* 112, 189-202.

Magalhães BS, Fiamoncini J, Deschamps FC, Curi R, Silva LP. 2010. Comparison of fatty acid composition in nine organs of the sympatric Antarctic teleost fish species *Notothenia rossi*. *Comp Biochem Physiol B* 155, 132-137.

Mujica, A., Villablanca, R. 2003. Larvas de crustáceos decápodos en los fiordos y canales magallánicos. *Cienc Tecnol Mar* 26, 73-83.

Napolitano, GE. 1999. Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems, p. 21-44. In: M. T. Arts and Wainman B C. (eds), *Lipids in freshwater ecosystems*. Springer.

Njinkoué, JM., Barnathan, G., Miralles, J., Gaydou, EM., Samb, A. 2002. Lipids and fatty acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese Coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops*. *Comp Biochem Physiol Part B* 131, 395-402.

Ojeda, V., Aguayo, M. 1986. Edad y crecimiento de merluza del sur (*Merluccius australis*). *Investigación Pesquera (Chile)* 33, 47-59.

Palma, S., Silva, N. 2004. Distribution of siphonophores, chaetognaths, and euphausiids in relation to oceanographic conditions in the fjords and channels of southern Chile. *Deep Sea Res II*, 51, 513-535.

Pérez- Barros, P., Romer, C., Calcagno, J., and Lovrich, G. 2010. Similar feeding habits of two morphs of *Munida gregaria* (Decapoda) evidence the lack of trophic polymorphism. *Rev Biol Mar Ocean* 45, 461-470.

Rodríguez, L & Bahamonde, R. 1986. Contribución al Conocimiento de *Munida subrugosa* (White, 1847), en la XII Región, Chile. In: P. Arana (ed.). La Pesca en Chile, Escuela de Ciencias del Mar, PUCV, Valparaíso, 283-296.

Rubilar, P., Céspedes, R., Ojeda, O., Cerna, F., Ojeda, G., Adasme, L., Cuevas, A. 1999. Análisis de la estructura y condición biológica de los recursos merluza del sur y congrio dorado en aguas interiores de la X; XI y XII Regiones. FIP 98-02. Informe Técnico FIP-IT/ 1999, 73 pp.

Rubilar, P., Payá, I., Zuleta, A., Moreno, C., Balbontín, F., Reyes, H., Céspedes, R., Pool, H., Adarme, L., Cuevas, A. 2002. Dinámica del reclutamiento de merluza del sur. Informe Técnico FIP-IT/ 2000-13,135 pp.

Røjbek, M., Jacobsen, C., Tomkiewicz, J., Støttrup, J. 2012. Linking lipid dynamics with the reproductive cycle in Baltic cod *Gadus morhua*. Mar Ecol Prog Ser 471, 215–234.

Saint John, M., Lund, T. 1996. Lipid biomarkers: linking the utilization of frontal plankton biomass to enhanced condition of juvenile North Sea cod. Mar Ecol Prog Ser 131,75-85.

Sargent, JR., Parkes, RJ., Mueller-Harvey, I., Henderson, R. 1987. Lipid biomarkers in marine ecology. In: Sleigh, M. (ed.), Microbes in the Sea. Ellis Horwood, Chichester 119-138.

Sernapesca, 2011. Anuario Estadístico de Pesca. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción. República de Chile. (www.sernapesca.cl)

Silva, N., Palma, S. 2008. The CIMAR Program in the austral Chilean channels and fjords. In: Silva, Palma (ed.), Progress in the Oceanographic Knowledge of Chilean Interior Waters, from Puerto Montt to Cape Horn. Comité Oceanográfico Nacional - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, 11–15 pp.

Scott, C., Slawomir, K., Falk-Petersen, S., Sargent, J. 2002. Species differences, origins and functions of fatty alcohols and fatty acids in the wax esters and phospholipids of *Calanus hyperboreus*, *C.glacialis* and *C. finmarchicus* from Arctic waters. Mar Ecol Prog Ser 235, 127-134.

Tocher, DR., Sargent, JR. 1987. The effect of calcium ionophore A23187 on the metabolism of arachidonic and eicosapentaenoic acids in neutrophils from a marine fish rich in n-3 (polyunsaturated fatty acid). Comp Biochem Physiol B 87,733-739.

Wessels, J & Spark, A. 1973. The fatty acid composition of the lipids from two species of hake. J. Sci. Fd Agric 24, 1359 - 1370.

Yoshinaga, M., Sumida, P., Wakeham, S. 2008. Lipid biomarkers in surface sediments from an unusual coastal upwelling area from the SW Atlantic Ocean. Org Geochem 39, 1385 -1399.

Yuan-you, Li., Wei-Zhou, C., Ze-Wei, S., Jie-Hui, C., Ke-Gang, Wu. 2005. Effect of n-3 HUFA content in broodstock diet on spawning performance and fatty acid composition of eggs and larvae in *Plectorhynchus cintus*. Aquaculture 245, 263-272

Zeng, D., Kangsen, M., AI Qinghui, J., Milley, E., Santosh, L. 2010. Lipid and Fatty Acid Compositions of Cod (*Gadus morhua*), Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Ocean Coast Sea Res 4, 381-388.