



FONDO DE INVESTIGACION PESQUERA

INFORMES TECNICOS F I P

FIP - IT / 95 - 35

INFORME : CARACTERIZACION GENETICA, HEMATO-
FINAL LOGICA Y QUIMICA SANGUINEA DE
SALMONIDOS SILVESTRES Y DE CULTIVO

UNIDAD : UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS
EJECUTORA

PROYECTO:

**CARACTERIZACION GENETICA, HEMATOLOGICA Y QUIMICA SANGUINEA
DE SALMONIDOS SILVESTRES Y DE CULTIVO
(FIP 95-35)**

**Ejecutor: Universidad de Los Lagos
Sub-contrato: Universidad Católica de la Ssma. Concepción
Jefe del Proyecto: Gonzalo Gajardo**

**INFORME FINAL
(MAYO 1997)**

CONTENIDOS

	Página
Resumen ejecutivo.....	6
PARTE 1	
1. CARACTERIZACION GENETICA (ELECTROFORESIS).....	8
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS POR OBJETIVOS	9
Objetivo 1 y 2.....	9
1.1. SALMON DEL ATLANTICO (<i>Salmo salar</i>)	9
1.2. SALMON COHO (<i>O. kisutch</i>)	9
1.3. TRUCHA ARCOIRIS (<i>O. mykiss</i>)	10
1.4. DISCUSION	10
Objetivo 3.....	11
Objetivo 4.....	12
DISCUSION GENERAL	13
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	14
PARTE 2	
CARACTERIZACION DE PARAMETROS SANGUINEOS.....	16
MATERIALES Y METODOS	16
1.0. Toma de Muestra.....	16
1.1. Anestesia	16
1.2. Punción.....	16
2.0. Parámetros Químico Sanguíneos.....	16
2.1. Muestra.....	17
1. Glucosa.....	17
2. Proteínas Totales	17
3. Albúmina.....	17
4. Lípidos totales	17
5. Alanina Aminotransferasa (ALT/GPT).....	17
6. Aspartato Aminotransferasa (AST/GOT).....	17
7. Creatinina	17
8. Nitrógeno ureico.....	17
9. Calcio	17
10. Fósforo	17
3.0. Parámetros Hematológicos	17

1. En terreno	17
2. En el laboratorio	18
3.1. Recuento de Leucocitos y Eritrocitos	18
3.2. Fórmula Leucocitaria y Morfología Eritrocitaria	18
3.3. Hematocrito.....	19
RESULTADOS.....	20
Patrones químico sanguíneos y hematológicos de los salmonidos cultivados actualmente en el país ..	20
1.1. Patrones de los Parámetros Químicos Sanguíneos para <i>Salmo salar</i> , <i>Oncorhynchus kisutch</i> y <i>Oncorhynchus mykiss</i>	20
1.2. Patrones de los Hematológicos para <i>Salmo salar</i> , <i>Oncorhynchus kisutch</i> y <i>Oncorhynchus mykiss</i>	21
COMENTARIO GENERAL.....	23
Patrones químico sanguíneos y hematológicos de los salmonidos silvestres que existen en el país.	24
2.1. Patrones de los parámetros químicos sanguíneos para <i>Salmo salar</i> , <i>Oncorhynchus kisutch</i> y <i>Oncorhynchus mykiss</i> , capturados en el Canal Dalcahue y Lago Chapo (salmónidos de vida libre).....	24
2.2. Patrones hematológicos para <i>Salmo salar</i> , <i>Oncorhynchus kisutch</i> y <i>Oncorhynchus mykiss</i> , capturados en el Canal Dalcahue y Lago Chapo (salmónidos de vida libre).....	24
Parámetros químico sanguíneos y hematológicos en la diferenciación de los salmónidos de vida libre y de cultivo.....	25
3.1. El estado juvenil es el único estado de desarrollo que se puede comparar para las tres especies en estudio.....	25
Parámetros químico sanguíneos.....	25
Parámetros Hematológicos	26
Parámetros químico sanguíneos y hematológicos que permitan identificar y diferenciar poblaciones de salmónidos.....	26
Determinar parámetros químico biológicos para diferenciar patologías en salmónidos de vida libre y cultivo.....	27
4. BIBLIOGRAFIA.....	29
ANEXO 1 (TABLAS) ELECTROFORESIS.....	32
Tabla 1. Stocks de cultivo utilizados para el análisis electroforético.....	33
Tabla 2. Parámetros morfométricos de salmónidos de cultivo.....	34
Tabla 3. Resumen del trabajo electroforético en <i>Salmo salar</i>	35
Tabla 4. Resumen del trabajo electroforético en salmón coho.....	36
Tabla 5. Resumen del trabajo electroforético en trucha arcoiris.	38
Tabla 6. Frecuencias alélicas, heterocigosidad observada y heterocigosidad esperada para las especies <i>Salmo salar</i> , <i>Oncorhynchus kisutch</i> y <i>Oncorhynchus mykiss</i> en las muestras de cultivo y de vida libre.....	39

Tabla 7. Frecuencias alélicas, heterocigosidad observada para <i>Oncorhynchus mykiss</i> de vida libre.....	42
Tabla 8. Test de homogeneidad para las frecuencias alélicas de las diferentes stocks comparadas.....	45
Tabla 9. Prueba de heterogeneidad para frecuencias alélicas entre muestras y valores F_{ST} para 10 loci polimórficos en trucha arcoiris de vida libre.....	46
 ANEXO 2 (TABLAS) PARAMETROS SANGUINEOS.....	 47
Tabla 1. Valores promedio de los parámetros químico sanguíneos para stock de cultivo de <i>Salmo salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. mykiss</i> en los estados de alevín juvenil smolt y reproductores.....	48
Tabla 2. Valores promedio de los parámetros hematológicos para stock de cultivo de <i>Salmo salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. mykiss</i> en los estados de alevín juvenil smolt y reproductores.....	49
Tabla 3. Fórmula leucocitaria para stock de cultivo de <i>Salmo salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. mykiss</i> en los estados alevín, smolt, juvenil y reproductor.....	50
Tabla 4. Valores promedio de los parámetros químico sanguíneos para stock de vida libre de <i>Salmo Salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. Mykiss</i> de agua dulce (lago Chapo) y agua de mar (Dalcahue). Peso promedio= 700 g.	51
Tabla 5. Valores promedio de los parámetros hematológicos para stock de vida libre de <i>S. salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. mykiss</i> de agua dulce (lago Chapo) y agua de mar (Dalcahue).....	52
Tabla 6. Fórmula leucocitaria para stock de vida libre de <i>Salmo salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. mykiss</i> de agua de mar (Dalcahue) en estado juvenil.....	53
Tabla 7. Comparación de parámetros químico sanguíneos entre stock de vida libre y stock de cultivo de <i>S. salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. mykiss</i> en estado juvenil (stock silvestres: Dalcahue, stock de cultivo: Río Cudeo).....	54
Tabla 8. Comparación de parámetros hematológicos entre stock de cultivo y de vida libre de <i>S. salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. mykiss</i> en estado juvenil (stock silvestres: Dalcahue; stock de cultivo: Río Cudeo).....	55
Tabla 9. Fórmula leucocitaria para stock de cultivo y de vida libre de <i>S. salar</i> , <i>O. kistutch</i> y <i>O. mykiss</i> en estado juvenil (stock vida libre: Dalcahue; stock de cultivo: Río Cudeo).....	56
Tabla 10. Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para <i>O. kistutch</i> , del stock de cultivo (estado de reproductores).....	57
Tabla 11. Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para <i>O. mykiss</i> , del cultivo (estado de reproductores).....	57
Tabla 12. Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para <i>Salmo salar</i> , estado smolt (stock de cultivo).....	58

Tabla 13. Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para <i>O. mykiss</i> , estado smolt (stock de cultivo).....	58
Tabla 14. Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para <i>O. kisutch</i> de stock de vida libre (Dalcahue).....	59
Tabla 15. Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para <i>Salmo salar</i> de vida libre (Dalcahue).....	59
Tabla 16. Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para <i>O. mykiss</i> de libre (Lago Chapo).....	60

Resumen ejecutivo

El proyecto de 12 meses de duración es una contribución al objetivo general de caracterizar la sangre de los salmónidos silvestres y de cultivo desde un punto de vista genético, hematológico y químico, como base para el desarrollo de futuros estudios poblacionales y patológicos. Las especies objeto del estudio, trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), salmón Coho (*O. kisutch*) y salmón del Atlántico (*Salmo salar*), son de introducción relativamente reciente y su grado de adaptación a las condiciones naturales está pobremente documentado. El trabajo realizado en animales de cultivo y de vida libre permitió, por lo tanto, discutir la pertinencia de utilizar el término silvestre en especies de reciente introducción, para las cuales existe una limitada caracterización genética en su rango de distribución (vida libre) o en los diferentes centros de cultivo. Asimismo, fue posible evaluar la disponibilidad de marcadores genéticos y su eficacia para identificar y/o diferenciar poblaciones. En este sentido el proyecto es un esfuerzo preliminar de caracterización, particularmente en lo que se refiere a poblaciones de vida libre, realizado en el Sur de Chile (Región X principalmente) con la finalidad de generar información útil para conocer la estructura genética de las poblaciones, reconocer stocks, monitorear y manejar la variabilidad genética. Todos estos aspectos son importantes para optimizar la producción y conservar los recursos genéticos tanto en animales de cultivo como de vida libre. Por otra parte, la caracterización químico-hematológica permitió establecer los rangos de variación para un número significativo de parámetros (14), lo cual servirá de referencia para determinar rangos de normalidad y realizar estudios comparativos sobre estado general de salud de peces, así como para evaluar y monitorear los efectos fisiológicos del stress ambiental y diagnosticar enfermedades específicas.

Un total de 1013 animales de cultivo (17 stocks) y 288 de vida libre se procesaron electroforéticamente en geles horizontales de almidón para lo cual el estudio contempló el análisis de entre 10-12 sistemas enzimáticos. El trabajo hematológico reúne información sobre parámetros químico sanguíneos y hematológicos para las tres especies, tanto de cultivo (estados de alevín, smolt, juvenil y reproductor) como para animales de vida libre (juveniles y adultos). Las muestras fueron obtenidas por punción cardíaca en animales previamente anestesiados utilizando jeringas heparinizadas y el plasma, obtenido por centrifugación a 1000 g durante 10 minutos, se congeló a -20 °C para su posterior análisis.

Los resultados electroforéticos demuestran que las stocks de cultivo de las especies estudiadas, salvo en el caso de trucha arcoiris, exhiben un número limitado de loci polimórficos. No obstante, las heterocigosidades observadas por locus variaron entre 0.00 y 0.36 (salmón del Atlántico), 0.16-0.55 (salmón Coho) y entre 0.14-0.70 (trucha arcoiris), rangos considerados normales, e incluso altos, en comparación a los señalados en la literatura. En animales de vida libre las heterocigosidades variaron entre 0.14 (PGM) y 0.80 (MDH), ambos valores observados en trucha arcoiris especie que resultó la más variable. Tanto en animales de vida libre como de cultivo las heterocigosidades observadas se desvían de lo esperado lo que sugiere que no se trata de poblaciones homogéneas o panmícticas. La comparación de diferentes stocks de cultivo y de animales de vida libre demostró que, en general, no hay diferencias importantes en cuanto a presencia o ausencia de ciertos alelos que sugieran cambios genéticos relevantes. Sin embargo, las frecuencias de alelos compartidos por los diferentes stocks son significativamente heterogéneas en algunos casos lo cual permite utilizar este parámetro para diferenciarlos. Este criterio es, sin embargo, relativo en las actuales circunstancias pues depende del stock/población que se compare, mientras la caracterización no incluya una muestra significativa de los stocks de cultivo ingresados al país y no se conozca la estructura genética de las poblaciones de vida libre, lo cual requiere muestreos en zonas específicas en todo el rango de distribución de las especies.

En relación al estudio hematológico, los resultados sugieren que los patrones químico sanguíneos y hematológicos son relativamente conservados entre las especies y los estados de desarrollo. Dentro de los

estados de desarrollo, la mayor diferencia en cuanto a los parámetros descritos la presentan los alevines. En cambio la principal diferencia entre los animales de vida libre y de cultivo se encuentra en la concentración de lípidos totales plasmáticos, los cuales aparecen muy disminuidos en los primeros. No obstante, algunos animales de vida libre exhiben altas concentraciones de lípidos totales lo que sugiere la necesidad de realizar estudios de tiempo de carencia para determinar la cinética de eliminación de lípidos desde el plasma. Con respecto a los parámetros hematológicos, existe una linfocitosis típica en todos los estados de desarrollo para las tres especies, tanto de cultivo como de vida libre. Los resultados sugieren que la mayor diferencia entre los estados juveniles de los individuos de cultivo y de vida libre para las especies estudiadas, se encuentra en la proporción de heterófilos maduros.

Se discute la importancia de la información generada en relación a cada uno de los objetivos propuestos por los términos técnicos de referencia. Se concluye que los datos reunidos conforman una buena línea base de información para estudios comparativos y para monitorear los cambios genéticos o en parámetros químico sanguíneos que ocurran en poblaciones de cultivo o de vida libre los cuales son necesarios para diseñar planes de manejo y servirán como referencia para futuros estudios poblacionales y/o patológicos. Asimismo permitirán monitorear de manera más confiable las eventuales interacciones entre animales de cultivo y "asilvestrados" en una importante área de distribución de salmónidos en Chile, la cual concentra también gran parte de la industria salmonera.

PARTE I

1. CARACTERIZACION GENETICA (ELECTROFORESIS)

MATERIAL Y METODOS

Origen, cantidad y procesamiento de las muestras. Se obtuvieron muestras de músculo e hígado (dependiendo del tamaño) de diferentes stocks de animales en cultivo (ver Tabla 1, Anexo I) de las especies Salmón del Atlántico (5 stocks, n=102), Salmón Coho (7 stocks, n=231) y trucha arcoiris (5 stocks, n=680), desde las pisciculturas río Pescado (Osorno) y río Trainel (Castro), ambas pertenecientes a la empresa "Salmones Huillinco". Los salmónes del Atlántico corresponden a retornantes de 2 inviernos (stocks Tecmar Grande, Tecmar Chico y Mowi importado) y de 3 inviernos (stock Sunndelsora), mientras que la muestra de Coho es una mezcla de varios stocks (Aquacultivos, Trusal, Salmosan, Mainstream, Quellón).

Los animales silvestres, colectados en Dalcahue, lago Chapo, lago Puyehue y tributarios del lago Rupanco, corresponden a *S. salar* (n=30), *O. kisutch* (n=99) y *O. mykiss* (159).

Un total de 1013 animales de cultivo (ver Tabla 1 y Tabla 2) y 288 silvestres (Tabla 6) se procesaron electroforéticamente en geles horizontales de almidón para un total de diez y doce sistemas enzimáticos. Entre 3 y 6 sistemas de buffers, dependiendo de la especie o del stock utilizado, permitieron resolver satisfactoriamente un máximo de 18 loci. Las enzimas se tiñeron siguiendo los protocolos de Shaw & Prasad (1970) y Harris & Hopkinson (1976) modificados y las variantes alélicas se designaron de acuerdo a Allendorf y Utter (1978). La correspondencia entre alelos de diferentes stocks se verificó corriendo en un mismo gel animales de distinta procedencia. Para cada muestra se obtuvo la siguiente información: i) presencia o ausencia de determinados alelos; ii) cantidad de individuos con un determinado genotipo por locus; iii) número y frecuencia de alelos por locus; iv) heterocigosidad por locus y heterocigosidad promedio para el total de loci.

Se sometió a prueba la hipótesis nula de que las frecuencias alélicas observadas en muestras de salmónidos de vida libre y de cultivo no son significativamente divergentes de lo esperado. Es decir, se calculó la

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

probabilidad de que las muestras de vida libre y de cultivo conformen un sólo grupo homogéneo o panmictico (test Ji cuadrado de bondad de ajuste o test de G). Bajo la misma hipótesis de trabajo se compararon todos los grupos disponibles para el análisis. Los datos se procesaron mediante el programa computacional Biosys 1 (Swofford & Selander, 1989).

RESULTADOS POR OBJETIVOS

Objetivos 1 y 2. Establecer los patrones genéticos de los salmónidos cultivados/silvestres actualmente existentes en el país.

Un número importante de stocks de **cultivo** y de animales **de vida libre** de las tres especies consideradas en el estudio fueron caracterizados en cuanto a sus patrones electroforéticos y niveles de variabilidad. A continuación se resumen, por especie, los principales aspectos del trabajo desarrollado con énfasis en la discusión del cumplimiento de los objetivos.

1.1. SALMON DEL ATLANTICO (*Salmo salar*).

La Tabla 3 resume el trabajo electroforético en la especie, tanto para animales de cultivo como silvestres, proporcionando información sobre los sistemas enzimáticos evaluados, los buffers utilizados, loci resueltos y características de los mismos (monomórfico/polimórfico). Cuatro tipos de buffer permitieron revelar satisfactoriamente un máximo de 18 loci. Sólo el loci EST-1, observado en una muestra de reproductores de piscicultura, resultó polimórfico ($P=4.5\%$), con tres alelos cuyas frecuencias variaron entre 0.064 (alelo 97), 0.113 (105) y 0.82 (alelo 100) (Tabla 6). El loci MDH-3.4 se descartó para el análisis considerando que el alelo 110 detectado inicialmente no se resolvió adecuadamente en posteriores corridas.

1.2. SALMON COHO

En la Tabla 4 se resume el trabajo electroforético para animales de cultivo y silvestres de la especie. Prácticamente todos los loci estudiados (16) son monomórficos, salvo EST-1 que presentó, para la mayor

parte de los buffers utilizados, alelos alternativos (97, 100, 105) tanto para animales silvestres como de cultivo.

1.3. TRUCHA ARCOIRIS

El resumen con la caracterización electroforética para la especie se encuentra en la Tabla 5. Catorce sistemas enzimáticos y 16 loci se resolvieron satisfactoriamente con tres tipos de buffers. La Tabla 6 contiene los datos para las stocks de cultivo y para los animales silvestres colectados en el lago Chapo (n=20), mientras que los datos para tres localidades de los lagos Puyehue y Rupanco se muestran en la Tabla 7.

Claramente esta es la especie más variable de las estudiadas observándose entre 2 y 3 loci polimórficos para los stocks de cultivo y un total de 10 para los silvestres.

1.4. DISCUSION

El procedimiento electroforético permitió resolver con éxito un total de 18 loci en diferentes stocks de cultivo y/o de vida libre de las especies salmón del Atlántico, Coho y trucha arcoiris. En general los animales de cultivo se caracterizan por: i) poseer un bajo porcentaje de loci polimórficos siendo la trucha arcoiris (2-3 loci polimórficos en stocks de cultivo y vida libre, respectivamente) la especie más variable; ii) un promedio cercano a los 2 alelos/locus y heterocigosidades que variaron entre 0.00 y 0.36 (salmón del Atlántico); 0.16-0.55 (salmón Coho) y entre 0.14-0.70 (trucha arcoiris).

No obstante, el porcentaje de loci polimórficos es muy bajo en salmón coho y del atlántico las heterocigosidades observadas son concordantes y en algunos casos superiores a los niveles de variabilidad genética reportados para Salmónidos en general (heterocigosidad de 0.01 a 0.05; Ryman and Stahl, 1981) y para cada especie en particular. Por ejemplo, para stocks de cultivo de *Salmo salar*, trucha arcoiris y salmón Coho, respectivamente, se han informado heterocigosidades entre 0.130 y 0.240 (Cross y Challanain, 1991); entre 0.002-0.070 (Nakajima Y Fujio, 1988) y promedios de 0.004 para salmón Coho (Winkler, 1996).

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

El análisis de los resultados permite concluir que, con excepción de la trucha arcoiris, tanto los animales de vida libre como cultivados comparten una baja variabilidad genética expresada en un bajo porcentaje de loci polimórficos. En cambio las heterocigosidades variaron entre 0.14 (PGM en trucha arcoiris) y 0.80 (MDH, trucha), rangos que pueden ser considerados normales o altos. En general, se observa una desviación importante respecto de las heterocigosidades esperadas lo cual puede reflejar la acción de procesos selectivos o estocásticos en las muestras de cultivo y de vida libre estudiadas.

Se ha observado que la variabilidad genética es normalmente baja en stocks de cultivo, en comparación con stocks silvestres. Por ejemplo, stocks de cultivo de salmón del Atlántico pueden exhibir entre 20-30% menos heterocigosidad que las poblaciones naturales (Cross y King, 1983). Sin embargo, este puede no ser siempre el caso. Ward et al. (1994) utilizando técnicas electroforética de aloenzimas y ADN mitocondrial concluyeron que ambas técnicas arrojan resultados semejantes en términos de que la variabilidad genética nuclear y mitocondrial no ha disminuído al comparar poblaciones ancestrales de salmónidos y las fundadas en Tasmania. Las leves diferencias observadas para el conjunto de los loci estudiados en este trabajo entre los stocks de cultivo y de vida libre existentes en el país concuerdan con la observación de Ward antes señalada (ver objetivos 3 y 4).

Objetivo 3. Determinar parámetros genéticos que permitan diferenciar salmónidos silvestres de salmónidos de cultivo

En las Tablas 6 y 7 se resumen los datos de frecuencias alélicas y heterocigosidad observada y esperada para las tres especies, tanto para stocks de cultivo como de vida libre. La comparación de diferentes stocks de cultivo y de animales de vida libre permite señalar que no hay, en general, diferencias importantes en cuanto a la presencia o ausencia de ciertos alelos que sugieren cambios genéticos relevantes. En el caso de la trucha debe verificarse la presencia del loci MDH 3-4 en poblaciones de cultivo o de MDH-2 en animales de vida

libre. Sin embargo, las heterocigosidades -que en la mayor parte de los casos difieren de lo esperado- varían ampliamente entre los grupos comparados.

La heterogeneidad observada en las frecuencias alélicas, en algunos casos altamente significativas (ver valores de G y F_{st} en tabla 8 y 9), demuestran que tanto los peces de vida libre como de cultivo no conforman un grupo panmictico. De esta forma las frecuencias alélicas sirven al propósito de diferenciar stocks y particularmente para diferenciar salmónidos silvestres de salmónidos de cultivo. Sin embargo, esta afirmación es parcialmente efectiva (sólo para determinadas comparaciones) puesto que se requeriría haber caracterizado todas las poblaciones -tanto de cultivo como de vida libre- para poder asignar un determinado grupo de animales de vida libre a un particular centro de cultivo. Es necesario, además, considerar que las frecuencias alélicas de las poblaciones naturales de salmónidos varían con la localidad geográfica de manera que el valor de un marcador es relativo mientras no se conozca su comportamiento en todo el ámbito de distribución de la especie. El trabajo de Sánchez et. al. (1996) es didáctico en este sentido. El loci marcador MDH-3,4 es polimórfico o monomórfico dependiendo de la población geográfica de salmón del Atlántico estudiada. Mientras algunas poblaciones poseen más de un alelo con diferentes frecuencias, otras sencillamente no lo poseen. En resumen, la capacidad discriminadora de algunos marcadores es relativa a las poblaciones que se comparan, mientras no exista suficiente información para el conjunto de las poblaciones.

Objetivo 4. Determinar parámetros genéticos que permitan identificar y diferenciar poblaciones de salmónidos.

El resultado electroforético demostró, como se dijo anteriormente, que las frecuencias génicas difieren significativamente entre stocks lo cual permite diferenciarlos. Sin embargo, dada la variabilidad de stocks disponibles en las pisciculturas y su prácticamente nula caracterización genética, no es posible asociar un animal o grupo de animales silvestres a una piscicultura en particular.

DISCUSION GENERAL

Las alozimas son los marcadores genéticos más frecuentemente utilizados para la discriminación de peces cultivados o silvestres/escapados. El más simple procedimiento utilizado es verificar diferencias en las frecuencias alélicas entre peces de cultivo y silvestres (Taggart & Ferguson, 1986; García de Leaniz et al., 1989; Skaala 1992). El caso mas claro es cuando un grupo tiende a estar fijado para alelos alternativos para un determinado locus. Sin embargo, la probabilidad de encontrar alelos específicos para una determinada población dependerá de la estructura genética de la misma, de manera que especies con gran cantidad de flujo génico inter poblacional tendrán con menor probabilidad alelos confinados a poblaciones específicas. A menudo, sin embargo, las diferencias en frecuencias alélicas entre peces cultivados y silvestres no son suficientemente grandes y en el caso particular de Chile esto se hace aún más evidente considerando el tiempo de introducción de los salmónidos.

El concepto "silvestre" establecido por las bases técnicas del proyecto es difícil de verificar para los salmónidos introducidos en Chile, pudiendo ser un caso excepcional la trucha arcoiris. Algunos autores nacionales reconocen este hecho refiriéndose a las truchas como asilvestradas (Veloso et al., 1990). La verificación objetiva de la condición silvestre (y no de animal escapado) requiere muestrear ríos en los cuales exista un stock o unidad reproductiva silvestre y en donde no coexistan salmónidos escapados, lo cual requiere antecedentes ecológicos y conductuales de los animales, además de antecedentes sobre eventuales liberaciones. En resumen, en este caso particular hay situaciones que impiden por el momento responder objetivamente al problema de diferenciar poblaciones "silvestres" de las de cultivo. Un trabajo serio para estos efectos requeriría: i) conocer los stocks originales y número de individuos ingresados al país para estimar tamaños efectivos y evaluar el impacto de fenómenos estocásticos o selectivos; ii) muestrear a lo largo de distribución de las especies para establecer la distribución de la variación alélica y determinar probables loci marcadores; iii) demostrar que el marcador no tiene ventajas o desventajas selectivas. iv) comparar estos marcadores con sus homólogos en los stocks fundadores, etc.

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Un factor de complejidad adicional es la diversidad de stocks ingresados al país. Conviene destacar, a manera de ejemplo, que en sólo dos de las pisciculturas muestreadas se manejaban alrededor de cuatro stocks diferentes por especie.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Se dispone de una base inicial de datos electroforéticos necesaria para conocer la estructura genética de las poblaciones de salmónidos (3 especies) reconocer stocks y monitorear la variabilidad genética. Esta caracterización inicial basada en datos obtenidos en 1013 animales de cultivo (17 stocks) y 288 de vida libre, es una buena base para el desarrollo de futuros estudios poblacionales, cumpliéndose de esta forma el objetivo general propuesto por el Fip para el presente proyecto.
2. No hay diferencias genéticas significativas, particularmente en lo que se refiere a presencia o ausencia de ciertos alelos, entre animales de cultivo y de vida libre. Sin embargo, las frecuencias de alelos compartidos por los diferentes grupos comparados son significativamente heterogéneas en algunos casos lo que permite utilizar este parámetro para identificar/diferenciar salmónidos (objetivos 3 y 4). Este criterio es, sin embargo, relativo en las actuales circunstancias pues depende del stock/población que se compare, mientras la caracterización no incluya una muestra significativa de los stocks de cultivo ingresados al país y no se conozca la estructura genética de las poblaciones de vida libre.
3. Se discute la pertinencia del término silvestre, utilizado en los términos técnicos de referencia, en especies de reciente introducción para las cuales existe una limitada caracterización genética en su rango de distribución (vida libre) o en los diferentes centros de cultivo. Se sugiere un procedimiento para evaluar objetivamente la condición "silvestre" y eventuales interacciones (genéticas) con animales de cultivo.
4. La técnica de electroforesis permite obtener distintos tipos de información. El proyecto establece una base referencial sobre las fortalezas y debilidades de la aplicación de la técnica a los problemas propuestos. Sólo

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

el uso de una base conceptual y de interpretación común permitirá la verificación o complementación de los datos presentados en futuros estudios.

5. Finalmente, los resultados del presente trabajo concuerdan con otros, particularmente con aquellos realizados en *Salmo salar*, que demuestran que los niveles de variabilidad genética y diferenciación dentro y entre poblaciones son bajos. Considerando la diversidad de estructuras genéticas descritas para las especies objeto del presente estudio se sugiere la verificación/complementación de los resultados expuestos con técnicas de mayor sensibilidad.

PARTE 2

CARACTERIZACION DE PARAMETROS SANGUINEOS.

MATERIALES Y METODOS

1.0. Toma de Muestra

1.1. Anestesia: La narcosis de los peces en el estado de reproductor (cultivo) y juveniles, fue obtenida sumergiendo los peces en un tanque con agua que contenia entre 150 y 200 ppm en benzocaina (BZ-20, Veterquímica). Para los estados de alevines y smolt fue necesario ajustar en cada caso la anestesia hasta la fase profunda (pérdida de los reflejos defensivos), evitando la asfixia y muerte de los individuos.

1.2. Punción: Para los estados de smolt, juvenil y reproductor, la muestra fue obtenida por punción de la arteria caudal. Dicha punción se obtiene insertando la aguja exactamente en la mitad de la línea media justo atrás del esfínter anal hasta tocar la columna vertebral, con una leve succión se ubica el punto exacto justo debajo de la columna vertebral y paralela a los rayos de la aleta caudal. En todos los casos se utilizaron jeringas previamente heparinizadas.

La extracción de sangre de los peces en el estado de alevines, fue realizada mediante la centrifugación a baja velocidad del animal entero, el cual previamente había sido anestesiado, secado y seccionado el pedúnculo caudal. El pedúnculo seccionado rápidamente se humedece con heparina (anticoagulante), y el animal se ubica en un tubo de centrifuga con una perforación en su extremo inferior el cual a su vez se introducen en un segundo tubo que será el que recibe la muestra.

2.0. Parámetros Químico Sanguíneos

2.1. Muestra: Los análisis químico sanguíneos fueron realizados utilizando plasma, el cual fue obtenido por centrifugación de la sangre entera obtenida en la punción caudal.(1000 x g x 10 min.). El plasma así separado, fue congelado a - 20 °C, hasta la realización de los análisis.

Los parámetros químico sanguíneos a determinados y la metodología a utilizada fueron los siguientes:

1. **Glucosa:** Determinación enzimática de punto final mediante glucosa oxidasa-peroxidasa. Lectura 405 nm.
2. **Proteínas Totales:** Determinación colorimétrica por el método de Biuret. Lectura 545 nm.
3. **Albumina:** Determinación colorimétrica con verde de bromo cresol. Lectura 630 nm.
4. **Lípidos totales:** Determinación enzimática mediante esterasa oxidasa/peroxidasa. Lectura 500nm.
5. **Alanina Aminotransferasa (ALT/GPT):** Determinación cinética. Lectura 340 nm.
6. **Aspartato Aminotransferasa (AST/GOT):** Determinación cinética. Lectura 340 nm
7. **Creatinina: Determinación cinética picrato alcalino.** Lectura 500nm.
8. **Nitrógeno ureico:** Determinación enzimática colorimétrica ureasa-hipoclorito. Lectura 600 nm.
9. **Calcio:** Determinación espectrofotométrica mediante azul de metiltimol. Lectura 610 nm.
10. **Fósforo:** Determinación por fosfomolibdato. Lectura 340nm.

3.0.- Parámetros Hematológicos

Los parámetros hematológicos realizados fueron: hemoglobina, hematocrito, recuento de glóbulos rojos, recuento de glóbulos blancos y formula leucocitaria. Todos los análisis fueron realizados a partir de sangre entera anticoagulada con heparina.

El trabajo experimental fue realizado en dos etapas:

1. **En terreno:** En la misma piscicultura, antes de 20 minutos de tomada la muestra, se preparó:
 - a) las diluciones para el recuento de leucocitos y eritrocitos;

b) las extensiones para la fórmula leucocitaria, lo cual es fundamental para evitar las deformaciones celulares que dificultan, simplemente, impiden el reconocimiento de células;

c) el llenado y centrifugación de los tubos de micro-hematocrito, lo cual es fundamental para impedir el "efecto swelling", es decir, el "hinchamiento" de los Eritrocitos, cuya consecuencia es un aumento *en vivo* del Hematocrito.

2. En el laboratorio se hizo:

a) el Recuento de Leucocitos y Eritrocitos;

b) la tinción de las extensiones y el reconocimiento y conteo porcentual de los Leucocitos (Fórmula Leucocitaria).

c) La observación microscópica de la serie roja.

3.1. Recuento de Leucocitos y Eritrocitos: Para el recuento celular, la sangre se diluyó 1/100 con solución de Natt y Herrick (1952). Los Leucocitos fueron contados en 2 cuadrantes mayores (volumen = $0,2 \text{ mm}^3$) de la cámara de Neubauer. El valor será expresado como Leucocitos/ mm^3 . Los Eritrocitos fueron contados en 5 cuadrantes menores del cuadrante central. El valor será expresado como Eritrocitos/ mm^3 .

La optimización del reconocimiento y conteo se logró utilizando contraste de fase.

3.2. Fórmula Leucocitaria y Morfología Eritrocitaria: Para el estudio morfológico y reconocimiento de Leucocitos y Eritrocitos las extensiones sanguíneas fueron teñidas con tinción panóptica May Grunwald-Giemsa. Sin embargo, dada las grandes variaciones cuali y cuantitativas detectadas y la escasa información ilustrativa al respecto, para optimizar la caracterización y reconocimiento de los distintos tipos celulares estimamos necesario, aplicar otras tinciones, cuyo estudio comparativo se describe a continuación:

a) **Tinción May-Grunwald Giemsa:** Esta, sobre la base de la experiencia en mamíferos, en peces marinos y en *O. mykiss* (Silva *et al.*, 1994; Cerda *et al.*, 1994; González, 1994), es la técnica de elección y de referencia ya que permite una buena definición de los contornos celulares, la resolución del núcleo y el citoplasma, la caracterización de la madurez de la Cromatina y la caracterización de formas inmaduras de los Eritrocitos, entre otros. Sin embargo, al citoplasma de los Polimorfonucleares (PMN) "Neutrófilos" corrientemente no se les distingue bien los gránulos citoplasmáticos y éste se observa con basofilia que va de leve a regular (ver reproductores), dificultando la diferenciación celular. Esta Basofilia citoplasmática fue la que nos llevó a preferir la denominación de "Heterófilos", de acuerdo a la recomendación de algunos autores (Braxhall *et al.*, 1973; Campell, 1990).

b) **Tinción Giemsa:** Esta tinción no contribuyó significativamente a la visualización de los gránulos y la resolución de la estructura cromatinica es de menor calidad que con la tinción May- Grunwald Giemsa. Tampoco alcanza la calidad de ésta en la caracterización de la serie roja.

c) **Tinción de Wright:** Con esta tinción disminuyó significativamente la basofilia citoplasmática y puso de manifiesto una fina granulación de tipo neutrófila en los PMN, razón por la cual desde este informe adelante los mencionaremos indistintamente como "Heterófilos" o "Neutrófilos".

d) **Tinción Wright-Giemsa:** Esta tinción no contribuyó significativamente ya que persistió la principal dificultad del Wright (indefinición de la estructura de la Cromatina), sumándose a ello efectos indeseados en la Serie Roja. No es recomendable.

3.3. Hematocrito: El test de microhematocrito se realizó en todos los casos con sangre entera anticoagulada con heparina y antes de los 20 minutos de tomada la muestra. La muestra fue centrifugada en centrífuga para microhematocrito a 12.000 x g x 5 minutos. Los valores son entregados como porcentaje (%).

RESULTADOS

Patrones Químico Sanguíneos y Hematológicos de los Salmónidos Cultivados Actualmente en el País.

1.1. Patrones de los Parámetros Químicos Sanguíneos para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss*.

Los patrones de los parámetros químico sanguíneos para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss* en los estados de alevines, smolt, juveniles y reproductores, se encuentran resumidos en la tabla 1.

Glucosa: Las concentraciones de glucosa (mg/dl), encontradas en el plasma de los peces en las especies estudiadas, es uno de los parámetros más variables, con grandes desviaciones estándar. La variabilidad de este parámetro es debido fundamentalmente al estado de stress de los animales en cultivo, explicado por el eje hipofisis tejido interrenal descrito para la elevación del cortisol plasmático, como hormona hiperglicemiante (Brown *et al.*, 1989 y Sapolsky, 1990). Los alevines de *Salmo salar* es el estado que presenta los menores valores, en tanto los reproductores de *O. mykiss* presentan los valores mayores. Se observa un patrón similar entre los mismos estados de desarrollo en las tres especies estudiadas (tabla 4 para los estados de alevin, smolt, juvenil y reproductor respectivamente) (ver tabla 1).

Urea: Los valores promedio de urea (mg/ml) se encuentran en el rango entre 6,1 y 17,9 mg/ dl para todos los estados de desarrollo de las tres especies estudiadas, siendo así uno de los parámetros estudiados menos variables (tablas 4,5,6,7). Estos valores son bajos tal como se esperaría para los teleosteos.

Creatinina: Los valores promedio de creatinina (mg/ml) se encuentran en el rango entre 0 y 3,6 mg/ dl para todos los estados de desarrollo de las tres especies estudiadas. Este parámetro resulto ser particularmente

bajo, lo cual indicaría que el metabolismo de los individuos estudiados es netamente anabólico, con muy poca actividad muscular, lo que es consistente con la condición de hacinamiento de los peces en cultivo.

Proteínas Totales: Los valores promedio de proteínas totales plasmáticas están en el rango entre 28 a 51 g/l (tablas 1,2,3). Sin embargo, el valor de 28 g/l está dado por los alevines de *O. Mykiss*, los cuales están por abajo del resto de los valores para los cuatro estados de desarrollo de las tres especies estudiada. El valor de este parámetro parece estar conservado entre las especies y estados de desarrollo.

Albúmina: Los valores promedio de la albúmina están en el rango entre 8 a 29 g/l (tablas 1,2,3). Sin embargo, en este caso es el valor más alto (juveniles *Salmo salar*), el que no está dentro de los patrones generales para los estados de desarrollo y especies estudiadas.

GOT y GPT (Aspartato Aminotransferasa y Alanina Aminotransferasa): Estas dos enzimas hepáticas poseen en mismo patrón para todos los estados de desarrollo de las tres especies estudiadas, siendo siempre el valor GOT mayor que el valor GPT. Este comportamiento ya ha sido observado por otros autores (Lusk, S. and Hlavova, V., 1993).

Lípidos Totales: Los valores de lípidos totales resultaron ser uno de los parámetros químico sanguíneos más variables, pero que sin embargo, el patrón común es de valores muy elevados en todas las especies y estados de desarrollo.

Calcio y Fósforo: Los valores promedio de calcio (mg/ml) se encuentran en el rango entre 7,3 y 14,6 mg/dl y de fósforo entre 8,5 y 16,6 mg/dl para todos los estados de desarrollo de las tres especies estudiadas. El valor de calcio resulto ser bajo que en comparación con el fósforo en todos los estados de desarrollo para las tres especies estudiadas.

1.2. Patrones de los Hematológicos para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss*.

Los patrones de los parámetros hematológicos para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss* en los estados de alevines, smolt, juveniles y reproductores, se encuentran resumidos en la tabla 2 para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y para *Oncorhynchus mykiss*.

Hematocrito: Los valores promedio de hematocrito se encuentran entre 25 a 48 % en los estados de desarrollo de las tres especies estudiadas. Los valores menores corresponden al estado de alevín el cual incrementa con el estado de desarrollo. Esto último es consistente con el incremento de los requerimientos de oxígeno con respecto al peso.

Hemoglobina: Los valores de hemoglobina siguen el mismo patrón que el hematocrito descritos en el párrafo anterior.

Recuento de glóbulos rojos y blancos: Los valores de los recuentos de glóbulos rojos y blancos parecen ser los más variables de los parámetros hematológicos, cuya variación podría ser interpretada en términos de stress. Este parámetro requiere de un mayor análisis.

Fórmula Leucocitaria: Las fórmulas leucocitarias para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss* en los estados de alevines, smolt, juveniles y reproductores, se encuentran resumidos en la tabla 3.

Fórmula Leucocitaria para *Oncorhynchus mykiss*: La morfología y distribución porcentual es similares en todos los estados de desarrollo, mostrando la tendencia linfocítica clásica (Braxhall *et al.*, 1973; Campell, 1990; Ordoñez, 1991). La serie roja también es similar, con una discreta tendencia a presentar mayor Policromatofilia los alevines, los cuales presentan también algunos blastos tipo Pro-eritroblastos.

Los reproductores, en cambio, presentaron morfología y distribución porcentual celular diametralmente diferente, destacando:

- Mayor porcentaje de heterófilos,
- Gran porcentaje de Heterófilos inmaduros,
- Heterófilos con mayor basofilia citoplasmática

- La mayoría de los Monocitos y los Heterófilos presentaban vacuolas citoplasmáticas.

En cuanto a los Eritrocitos, el 100% de los alevines presentaba gran cantidad de eritrocitos inmaduros (Policromasia de regular a muy intensa), siendo levemente menor en los juveniles. En reproductores, en cambio, no se observó Policromasia, lo cual indica que en éstos la eritropoyesis estaría inhibida.

Fórmula Leucocitaria en *Salmo salar*: Los alevines presentaron morfologías y Fórmula Leucocitaria (F.L.) del mismo tipo de la de los alevines de *O. kisutch*. La F.L. de smolt y cosecha es similar, destacando la existencia de un porcentaje menor de linfocitos y con un rango más amplio en comparación con alevines, junto con un mayor porcentaje de heterófilos. No se observó en esta especie los dramáticos cambios observados en *O. kisutch* al pasar de alevines a reproductores, hecho para el cual no tenemos aún una respuesta clara, salvo que se trate de una respuesta al estrés. Los smolt y los de cosecha presentaban en algunos individuos heterófilos con mayor basofilia citoplasmática; también se observó monocitos y heterófilos con vacuolas citoplasmáticas en diferentes grados.

En cuanto a los eritrocitos el 100% de los alevines presentaba gran cantidad de eritrocitos inmaduros (Policromasia de regular a muy intensa), siendo levemente menor en los juveniles. En los de cosecha, hubo una disminución significativa de la Policromasia, llegando a ser prácticamente nula en algunos individuos.

Fórmula Leucocitaria en *O. mykiss*: Los alevines presentaron morfología y Fórmula Leucocitaria (F.L.) del mismo tipo de alevines de *O. kisutch* y *S. salar*, a su vez, las F.L. de alevines, juveniles y smolt, a pesar de no ser todos del mismo centro, presentan un cuadro leucocitario similar. Los reproductores presentaron cambios similares a los descritos para *O. kisutch*, tanto la F.L. como en la morfología eritrocitaria.

COMENTARIO GENERAL

Los resultados de la citología sanguínea muestran en los leucocitos una tendencia linfocítica en alevines y juveniles en las tres especies. Sin embargo, aún cuando las F.L. son similares, cualitativamente hay diferencias que requieren de estudios auxiliares posteriores para la completa definición. La gran respuesta

hetero-neutrofílica de los reproductores (*O. kisutch* y *O. mykiss*) estudiados a la fecha, requieren un mayor estudio; sin embargo, la situación de estrés que el estado en si mismo representa, podrían explicar por lo menos en gran parte la gran leucocitosis neutrofílica, tipo de "Reacción Leucemoide" en algunos, puesto que hubo individuos que sobrepasaron incluso los 100.000 leucocitos por mm^3 , la mayoría de los cuales a su vez presentaban morfología similar a la observada en "Síndromes Sépticos" en estados finales.

Por otra parte, la serie roja también presenta cambios considerables dentro de una misma especie, particularmente en el grado de madurez. Entre especies también se observó cambios, destacando en particular la presencia de individuos de los reproductores de *O. mykiss* con eritrocitos con relación núcleo-citoplasma mayor que el resto.

Otros hechos destacables son los relacionados con individuos en todas las series que escaparon a la norma, indicando la posible presencia en la población de individuos con alguna alteración no detectable a simple vista.

Patrones Químico Sanguíneos y Hematológicos de los Salmónidos Silvestres que Existen en el País.

2.1. Patrones de los Parámetros Químicos Sanguíneos para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss*, capturados en el Canal Dalcahue y Lago Chapo (Salmónidos de Vida Libre)

Los patrones de los parámetros químico sanguíneos para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss* capturados en el Canal Dalcahue y Lago Chapo (Salmónidos de Vida Libre), en estado juvenil, se encuentran resumidos en la tabla 4. Los patrones observados para todos los parámetros determinados, poseen las mismas tendencias que para los salmónidos en cultivo.

2.2. Patrones de los patrones Hematológicos para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss*, capturados en el Canal Dalcahue y Lago Chapo (Salmónidos de Vida Libre)

Los patrones de los patrones hematológicos para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss* capturados en el Canal Dalcahue y Lago Chapo (Salmónidos de Vida Libre), en estado juvenil, se encuentran resumidos en la tabla 5 para *Salmo salar*, para *Oncorhynchus kisutch*; y para *Oncorhynchus mykiss*. Los patrones observados para todos los parámetros determinados, poseen las mismas tendencias que para los salmónidos en cultivo. La fórmula leucocitaria se muestra en la Tabla 6.

Parámetros Químico Sanguíneos y Hematológicos en la Diferenciación de los Salmónidos de Vida Libre y de Cultivo

3.1. El estado juvenil es el único estado de desarrollo que se puede comparar para las tres especies en estudio.

Parámetros químico sanguíneos: La comparación de estos parámetros se encuentra resumidos en la tabla 7. Los resultados sugieren que para el estado juvenil de *Salmo salar* las mayores diferencias están dadas por la concentración de urea, siendo ligeramente más alta en los individuos de vida libre, en tanto la albúmina esta en relación inversa, sin embargo, dicha diferencia pueden ser efecto del estado nutricional de los individuos de vida libre. La mayor diferencia entre los individuos de cultivo comparados con los de vida libre para las especies *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* se observa en la concentración de lípidos totales, indudablemente dicha diferencia es producto de la alimentación rica en ácidos grasos utilizada en los individuos de cultivo. Sin embargo, dicha diferencia no se observa en la especie *O. mykiss*, lo cual puede corresponder a que los animales de vida libre habían sido capturados aproximadamente un mes antes de tomada la muestra y mantenidos en un tanque. Durante el tiempo de cautiverio, los individuos fueron alimentados con alimento para peces de cultivo. Sumado a lo anterior, la concentración de glucosa en los animales de vida libre también es más alta que los individuos de cultivo, lo cual es consistente con la característica de "animales diabéticos asignado a *O. mykiss* (Robert, 1981).

Uno de los estudios plausibles a realizar con respecto a los lípidos plasmáticos totales, tiene referencia a la cinética de la concentración de estas sustancias en los periodos de carencia.

Parámetros Hematológicos: La comparación de estos parámetros se encuentran resumidos en la tabla 8 para *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *O. mykiss*. En las tres especies, los resultados sugieren que tanto la concentración de hemoglobina, como el valor del hematocrito son mayores en los individuos de vida libre con respecto a los de cultivo, lo cual es consistente con el mayor requerimiento de oxígeno que deberían tener los individuos de vida libre. En tanto, la fórmula leucocitaria, la mayor diferencia está en los heterófilos maduros, los cuales se presentan siempre en menor proporción en los individuos de vida libre. Consistentemente con lo observado para los parámetros químico sanguíneos de *O. mykiss*, la diferencia heterofílica no parece existir.

Parámetros Químico Sanguíneos y Hematológicos que Permitan Identificar y Diferenciar

Poblaciones de Salmónidos

Parece no existir parámetros hematológicos y químico sanguíneos capaces útiles en la diferenciación poblacional de salmónidos. Los resultados sugieren que existen patrones comunes en los parámetros antes mencionados entre las especies y estadios de desarrollo. La diferencia más marcada entre los estadios de desarrollo para las tres especies estudiadas corresponde a los parámetros encontrado para los alevines de los individuos de cultivo. Sin embargo, entre los individuos de vida libre y cultivo para las especies *Salmo salar* y *Oncorhynchus kisutch* la diferencia radica en el contenido de lípidos plasmáticos, pudiendo ser estos alterados por el tipo de alimentación recibida como en el caso mencionado para *O. Mykiss*. La diferencia en la proporción de heterófilos maduros sigue siendo el parámetro hematológico que podría ser diferencial. La comparación de la fórmula leucocitaria para stocks de cultivo y vida libre se observa en la Tabla 9.

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Los resultados sugieren que no existen diferencias significativas entre sexo, para las especies estudiada. La información para animales de cultivo (diferentes especies y estados de desarrollo) y de vida libre se encuentra desde la Tabla 10 a la 16.

Determinar Parámetros Químico Biológicos Para Diferenciar Patologías En Salmónidos De Vida Libre Y Cultivo

Todos los parámetros determinados en este trabajo eventualmente pueden ser útiles en la identificación de patologías en peces. En especial las relaciones entre los parámetros pueden ser útiles indicadores del estado fisiológico. Por ejemplo la relación Albúmina/Proteínas Totales; Calcio/Fósforo; GPT/GOT y Hematocrito/Hemoglobina, parecen ser constantes entre las especies y estadios de desarrollo. Para testar lo anterior de debe trabajar con individuos enfermos y de patologías reconocidas.

Sin embargo, el valor y significado diagnóstico de los parámetros individuales sugeridos hasta este momento es:

1. **Glucosa:** La glucosa puede ser un buen indicador para evaluar los estados de inanición en el límite inferior del rango normal (LIRN), o bien para evaluar el stress agudo y crónico sobre el límite superior del rango normal (LSRN) (Wedemeyer and Yasutake, 1977).

2. **Proteínas Totales:** Bajo el límite inferior del rango normal puede ser un buen indicador de enfermedades infecciosas, daño renal, desbalance nutricional o inanición. En tanto sobre el límite superior del rango normal puede significar hemoconcentración por desbalance hidrosalino (Wedemeyer and Yasutake, 1977).

También, bajo el LIRN se ha observado que dichos valores disminuidos están asociados a una disminución a la resistencia de enfermedades infecciosas (Prihoda, J. and Bienek, P., 1993). En tanto la correlación con variables ambientales, indican que una baja concentración de las proteínas plasmáticas esta asociada a una alta concentración de nitritos y amonio en el medio (Prihoda, J. and Bienek, P., 1993).

3. **Albúmina:** Esta proteína asociada a los procesos de transporte de sustancias es generalmente sintetizada en el hígado. La disminución está generalmente asociada a daño hepático crónico (Henry, R.J., *et.al.*,1980)

4. **Lípidos totales:** Las variaciones de las concentraciones plasmáticas de colesterol tanto en LIRN y LSRN serian indicadores de un desbalance dietario. En tanto en el límite superior también puede ser un indicador de stress crónico, cuando las variables de la dieta han sido subsanadas (Wedemeyer and Yasutake, 1977; Jirasek *et. al* 1993).

5. **Alanina Aminotransferasa (ALT/GPT) y Aspartato Aminotransferasa (AST/GOT):** Estas enzimas son sintetizadas en el hígado, siendo intracelulares, luego el plasma sanguíneo no representa su compartimiento funcional. La detección de una alta actividad de estas enzimas en dicho compartimiento, puede significar un daño hepático agudo (infección viral o bacteriana), o un daño hepático crónico (contaminación por hidrocarburos policíclicos aromáticos) (Lusk, S. and Hlavova, V.,1993)

6. **Creatinina:** La creatinina es un metabolito de la creatininaquinasa, la cual es una enzima involucrada en la actividad muscular. Una alta concentración de creatinina puede ser producto a de una alta actividad muscular o bien de una disminución de la depuración renal (Henry, R.J., *et.al.*,1980).

7. **Nitrógeno ureico, Calcio y fósforo:** el balance de estas sustancias depende de la depuración renal, luego tanto un aumento como disminución con respecto a los rangos plasmáticos normales pueden ser un indicador de una disfunción renal (Henry, R.J., *et.al.*,1980). Sin embargo, variaciones significativas de calcio y fósforo, también pueden estar asociadas a desbalances nutricionales referentes a la ingesta de vitaminas (Jirasek *et. al* 1993).

No se puede dejar de mencionar, que cualquiera de los índices antes discutidos, no son indicadores únicos de una patología, luego el diagnóstico de estas debe realizarse por medio de la conjunción de los síntomas clínicos en concordancia con las determinaciones química sanguíneas.

4. BIBLIOGRAFIA (Parte 1 y 2)

Allendorf, F.W. & F.M. Utter. 1978. Population genetics. In W.S. Hoar, D.J. Randall & J.R. Brett (Eds), Fish Physiology. Academic Press, London. VIII: 407.

Blaxhall, P.C. and Daisley, K. W. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. J. Fish Biol. 5:771-781.

Blaxhall, P. C. 1973. Error in hematocrit value produced by inadequate concentration of ethylenediamine tetra-acetate. J. Fish Bil. 5:767-769.

Brown, J. A., Eduards, D. and Whitehead C. 1989. Cortisol and thyroid hormone responses to acid stress in the brown trout, (*Salmo trutta*). J. Fish Biol. 35, 73-84.

Cerda A. 1994. Valores de referencia de la serie roja en *Oncorhynchus mykiss* en la Piscicultura Centro Antuco, Los Angeles, VII Región. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Departamento de Oceanografía. Universidad de Concepción.

Cross, T.F. & Challanain, D.N. 1991. Genetic characterization of potential farmed escaped salmon (*Salmo salar*) in Ireland using enzyme electrophoresis. Aquaculture, 98:209-216.

Cross, T.F. & King, J. 1985. Genetic effects of hatchery rearing in Atlantic salmon. Aquaculture 33: 33-40.

Crozier, W. 1993. Evidence of genetic interaction between escaped farmed salmon and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in a Northern Irish river. Aquaculture 113 (1993) 19-29.

González, P. 1994. Serie roja *Oncorhynchus mykiss*: Reticulocitos como marcadores de stress crónico. Pisciculturas VII Región. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Facultad de Ciencias. Departamento de Oceanografía. Universidad de Concepción.

Harris, H & D.a. Hopkinson. 1976.. Handobook of enzyme electrophoresis in human genetics. North Holland, Amsterdam 389 pp.

Henry, R.J., Cannon, D.C. and Wilkelman, J.W. 1980. Química Clínica Bases y Técnicas. Editorial JIMS. Barcelona.

García de Leaniz, C., Verspoor, E. and Hawkins, A.d. 1989. Genetic determination of the contribution of stocked and wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., to the angling fisheries in two spanish rivers. J. Fish Biol. 35, 261-70.

Goss, G.G. & C.M. Wood. 1988. The Effects of Acid and Circulating Plasma Cortisol Levels and others Blood Parameters in the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. Journal of Fish Biology, 32: 63 - 76.

Jirasek, J., Palackova, J. and Mares, J. 1993. The effect of a different quality of feed on selected indicators of internal environment of the rainbow trout. Proc. of the 3th Ichthyohaematological Conference. Edited by B. Vykusová, Z. Svobodová and J. Máchová. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology. Dept. of Water Toxicology and Fish Diseases. Vodnany, CZECH REPUBLIC.

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

- Korkoch, D.E., A.H. Houston & J.D. Gray. 1988. Effects of sampling conditions on selected blood variables of rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Journal of Fish Biology*. 33:319-330.
- Langler, F.K., J.E. Bordocho, R.R. Miller y D.R. Passino, 1984. *Ictiología*. Ed. AGT S.A. México. 193-213.
- Lusk, S. & Hlavova, V. 1993. Enzyme activity Dynamics in Fish Blood. Proc. of the 3rd. Ichthyohaematological Conference. B. Vykusova, Z.Svobodova & J.Machova. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology. Dept. of Water Toxicology and Fish Diseases. Vodnany, Czech Republic.
- McCarthy, D.H.; J.P., Stevenson & M.S., Roberts. 1973. Some Blood Parameters of the Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Journal of Fish Biology*. 5: 1 - 8.
- Nakajima, M. & Y. Fujio. 1988. Genetic differentiation in Cultured Populations of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) in Japan. *Tohoku J. of Agricultural Research* 38(1-4):35-48.
- Ossiander, F. and Wedemeyer. 1973. Computer program for sample sizes required to determinate disease incidents in fish population. *J. Fish. Res. Board Can.* 30(9):1383-1384.
- Prihoda, J. and Bienek, P., 1993. Reaction of blood proteins to stress. Proc. of the 3th Ichthyohaematological Conference. Edited by B. Vykusová, Z. Svobodová and J. Máchová. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology. Dept. of Water Toxicology and Fish Diseases. Vodnany, CZECH REPUBLIC.
- Ryman and Stahl. 1981. Genetic perspectives of the identification and conservation of Scandinavian stocks of fish. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Sciences*. Vol:38.1981
- Roberts, R. 1981. *Patología de los peces*. Primera edición, Ediciones Mundi Prensa, España. 366 pág.
- Sánchez, J.A., Clabby, C., Ramos, D., Blanco, G., Flavin, F., Vázquez, E. & Powell, R. 1996. Protein and microsatellite single locus variability in *Salmo salar*. (Atlantic Salmon). *Heredity* 77: 423-432.
- Sapolsky, R.. 1990. El estrés en los animales. *Investigación y ciencia*. 162, 68-75.
- SERNAP, 1994. *Anuario Estadístico De Pesca*. Min de Economía, Fomento y Reconstrucción, Chile.
- Shaw, C.R. & Prasad, R. 1970. Strach gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. Genet.* 4:297-320.
- Swofford, D.L. & R.B. Selander. 1989. Biosys-1: A computer programme for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. D.L. Swofford (ED), Illinois Natural History Survey.
- Silva V. y A. Cerda. 1994. Reticulocitos en *Oncorhynchus mykiss*. Libro de resúmenes de las XVI Jornadas de Ciencias del Mar y Y Jornada de Salmonicultura. Universidad Austral, Campus Pellico. Puerto Montt, Chile. Pág. 195.
- Taggart, J.B. & Ferguson A. 1986. Electrophoretic evaluation of a supplemental stocking programme for brown trout, *Salmo trutta* L. *Aquacult. Fish. Manage.* 17, 155-62

Veloso, A., Iturra, P., Colihueque, N., Díaz, N. & Estay, F. 1990. Polimorfismo cromosómico de dos poblaciones de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) de la zona central de Chile. *Biología Pesquera* 19:3-8.

Ward, R.; P. M. Grewe, A. J. Smolenski. 1994. A comparison of allozymes and mitochondrial DNA in Atlantic salmon from Tasmania and from the ancestral population in Canada. *Aquaculture* 126 (1994) 257-264

Wedemeyer, G.A. & Nelson, N. 1975. Statistical methods for estimating normal blood chemistry ranges and variance in fish. *J. Fish. Res. Board Can* 32(4):551-554.

Wedemeyer, G.A. & Yasutake, W.T. 1977. Clinical methods for the assesment of effects of environmental stress on fish health. Technical Papers of the U.S. Fish and Wild Life Services, United States Department of the Interior. Fish and Wild Life Service. Washington, D.C.

**ANEXO 1 (TABLAS)
ELECTROFORESIS**

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Tabla 1. Stocks de cultivo utilizados para el análisis electroforético.

Especie (origen)	Stock	N
<i>S. salar</i>		
Huillinco	Tecmar Grande	17
	Tecmar Chico	14
	Mowi importado	35
	Sundelsora	5
	Reproductores ⁽¹⁾	31
<i>O. kisutch</i>	Reproductores	22
Polcura	Smolt	40
Aquacultivo-Hornopirén	Aquacultivo	94
Aquacultivo-Osorno	Aquacultivo	22
	Trusal	25
	Salmosan	4
	Mainstream	16
	Quellón	8
<i>O. mykiss</i>	Reproductores	93
	Cofradex (alevines)	133
	Trout-lodge	266
	Silvertrout	168
Huillinco	Huillinco	20
Total		1013

(1) El término reproductores corresponde a la designación establecida por la empresa para animales separados con fines reproductivos.

Tabla 2. Parámetros morfométricos de salmónidos de cultivo.

Especie/origen	N	Longitud Total (cm) x ± d.e. (mín-máx)	Peso corporal (kg) x ± d.e. (mín-máx)
<i>Salmo salar</i>			
(N-71)			
Tecmar Grande	17	100.5±5.52 (92-112)	12.0±1.85 (9.4-15.8)
Tecmar Chico	14	93.3±4.80 (82-100)	9.3±1.11 (6.3-11.0)
Mowi importado	35	94.1±3.53 (86-103)	9.1±1.18 (6.8-12.6)
Sunnelsora	5	103.0±2.28(100-106)	12.7±0.79(11.2-13.3)
<i>Oncorhynchus kisutch</i>			
(N-27)			
Aquacultivo	20	74.8±2.09 (70-78)	5.6±0.58 (4.5-6.5)
Trusal	13	72.9±3.97 (65-79)	5.0±0.90 (3.5-6.2)
Salmosan	5	71.0±3.63 (65-75)	4.7±0.80(3.4-5.6)
Mainstream	17	69.0±3.24 (64-76)	4.3±0.76 (3.0-5.4)
Quellón	8	73.5±3.08 (67-77)	5.0±1.24 (2.9-6.7)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>			
(N-27)			
Trout Lodge	27	24.3±1.73 (21.28)	0.2±0.03 (0.1-0.3)

N= Tamaño de la muestra; x =d.e.: Promedio = desviación estándar, mín: mínimo y máx: máximo.

Tabla 3. Resumen del trabajo electroforético en *Salmo salar*.

Tampón	Código	Enzima	Loci	Alelos	Comentario
Tris Borato pH 8.6	3.4.11.1	Aminopeptidasa	AP-1		Monomórfica
			AP-2		Monomórfica
	3.1.1.1	Esterasa	EST-1	97,100,105	Polimórfica
			EST-2		Monomórfica
			EST-3		Monomórfica
	1.1.1.37	Malato deshidrogenasa	MDH-1		Monomórfica
			MDH-3-4	100,110	Polimórfica?*
	1.15.1.1	Tetrazolium Oxidasa	TO-1		Monomórfica
			TO-2		Monomórfica
	2.7.5.1	Fosfoglucomutasa	PGM-1		Monomórfica
			PGM-2		Monomórfica
Tris cítrico, pH 8.0	—	Proteínas musculares	P.T.-1		Monomórfica
	1.1.1.2	Isocitrato deshidrogenasa	IDH-1		Monomórfica
IDH-2				Monomórfica	
	4.2.1.2	Fumarasa	FH-1		Monomórfica
	1.1.1.8	α -Glicerofosfato deshidrogenasa	α -GPDH-1		Monomórfica
Poulik pH 8.7-8.2	2.6.1.1	Aspartato amino transferasa	AAT-1		Monomórfica
Litio pH 8.3	1.1.1.27	Lactato deshidrogenasa	LDH-1		Monomórfica

* La observación inicial del alelo 110 no pudo repetirse consistentemente durante el estudio. La condición de polimórfico es dudosa por lo tanto.

Tabla 4. Resumen del trabajo electroforético en salmón coho.

Tampón	Código	Enzima	Loci	Alelos	Comentarios
Litio	3.1.1.1	Esterasa	EST-1	100,105,97,95*	Polimórfico
			EST-3		Monomórfico
			EST-4		Monomórfico
	2.7.5.1	Fofoglucomutasa	PGM-1		Monomórfico
Poulik	2.6.1.1	Lactato deshidrogenasa	LDH-1		Monomórfico
			LDH-2		Monomórfico
	3.1.1.1	Esterasa	EST-1		MR
	1.1.1.37	Malato deshidrogenasa	MDH3-4		Monomórfico
	2.6.1.1	Aspartato amino transferasa	AAT		SA
			SDH		MR
			EM-1		Monomórfico
			EM-2		Monomórfico
	3.4.11.1	Amino peptidasa	AP		MR
Histidina			6PGDH-2		Monomórfico
			6PGDH-2		Monomórfico
TC-6,9	1.1.1.27	Lactato deshidrogenasa	LDH-1		Monomórfico
			LDH-2		Monomórfico
	3.1.1.1	Esterasa	EST-1	100,105,97	Polimórfico
			EST-3		Monomórfico
			EST-4		Monomórfico
	2.7.5.1	Fosfoglucomutasa	PGM-1		Monomórfico
			6PGDH-2		Monomórfico
			6PGDH-2		Monomórfico
			SDH		MR

MR= Mala resolución

SA= Sin actividad

* Sólo presente en una piscicultura en este buffer.

Tabla 4 Continuación. Resumen del trabajo electroforético en salmón coho.

Tampón	Código	Enzima	Loci	Alelos	Comentarios
TC-8	1.1.1.27	Lactato deshidrogenasa	LDH-1		Monomórfico
			LDH-2		Monomórfico
	3.1.1.1	Esterasa	EST-1	100,105,97	Polimórfico
			EST-3		Monomórfico
			EST-4		Monomórfico
	1.1.1.37	Malato deshidrogenasa	MDH 3-4		Monomórfico
	2.6.1.1	Asparato amino transferasa	AAT		SA
			6PGDH-2		Monomórfico
			EM-1		Monomórfico
			EM-2		
			G3PDH		Polimórfico

MR= Mala resolución SA= Sin actividad

* Sólo presente en una piscicultura en este buffer.

Tabla 5. Resumen del trabajo electroforético en trucha arcoiris

Tampón	Código	Enzima	Loci	Alelos	Comentario
2	1.1.1.1	Deshidrogenasa alcohólica	ADH-2	-90,100	polimórfico
3	2.6.1.1	Aspartato aminotransferasa	AAT		monomórfico
1	3.1.1	Esterasa	EST-1	94,100	polimórfico
1	3.1	Esterasa-D	ESTD	95,100	polimórfico
1	1.1.1.40	Enzima málica	MEP-1	100,105	polimórfico
			MEP-2	97,100	polimórfico
2	5.4.2.2	Fosfoglucomutasa	PGM-1	100,110	polimórfico
3	1.1.1.44	Fosfogluconato-3-fosfato deshidrogenasa	PGM-2	90,95,100	polimórfico
1		deshidrogenasa	PGDH		monomórfico
3	5.3.1.9	Glucosa-6-fosfato isomerasa	GPI		monomórfico
1	1.1.1.42	Isocitrato deshidrogenasa	IDHP-3,4*	100,110	polimórfico
1	1.1.1.14	L-iditol deshidrogenasa	IDDH		monomórfico
1	1.1.1.27	L-lactato deshidrogenasa	LDH		monomórfico
1	1.1.1.37	Malato deshidrogenasa	MDH-2	110, 100,90	polimórfico
			MDH- 3,4*	100,95,90	polimórfico
1	1.15.1.1	Superoxido dismutasa	SOD-1*	100,115	polimórfico
2	1.2.3.2	Xantina deshidrogenasa	XDH		monomórfico

1. Tris EDTA citrato pH 7.1
2. Tris EDTA borato pH 8.6
3. Hidróxido de Litio-ácido bórico pH 8.0

(*) polimórfico sólo en algunas poblaciones de vida libre.

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Tabla 6. Valores de frecuencias alélicas, heterocigosidad observada y heterocigosidad esperada para las especies *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss* en las muestras de cultivo y de vida libre.

Especie	Localidad/ Origen	Loci	Alelos	Frecuencia Alélica	Ho	He	D
<i>S. salar</i>	Reproductores	Est-1	100	0.823	0.36	0.31	0.14
	n = 31		97	0.064			
			105	0.113			
	Vida Libre						
	Dalcahue	Est-1	100	1.000	0.00		
	n = 30						
<i>O. kisutch</i>	Cultivo						
	Polcura						
	Reproductores	Est-1	100	0.682	0.55	0.44	0.22
	n = 22		97	0.318			
	Smolt	Est-1	100	0.738	0.40	0.41	-0.03
	n = 40		97	0.212			
			95	0.050			
Homopirén	Aquacultivo	Est-1	105	0.053	0.25	0.36	-0.30
	n = 94		100	0.776			
			97	0.171			
Osorno	Aquacultivo	Est-1	105	0.05	0.41	0.45	-0.08
	n = 22		100	0.75			
			97	0.20			
		Trusal	Est-1	105	0.040	0.16	0.34
	n = 25		100	0.840			
			97	0.120			
	Salmosan	Est-1	100	0.875	0.25	0.46	-0.46
	n = 4		97	0.125			

Tabla 6 (Cont.). Valores de frecuencias alélicas, heterocigosidad observada y heterocigosidad esperada para las especies *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss* en las muestras de cultivo y de vida libre

Especie	Localidad/ Origen	Loci	Alelos	Frecuencia Alélica	Ho	He	D
	Mainstream	Est-1	100	0.650	0.31	0.43	-0.28
	n = 16		97	0.350			
	Quellón	Est-1	105	0.375	0.38	0.29	-0.57
	n = 8		100	0.562			
			97	0.063			
	Vida Libre	Est-1	105	0.010	0.28	0.18	-0.03
	Dalcahue		100	0.748			
	n = 99		97	0.242			
<i>O. mykiss</i>	Cultivo						
	Polcura						
	Reproductores	Est-1	105	0.018	0.55	.017	2.23
	n= 28		100	0.893			
			97	0.179			
	n = 19	Pgm-2	100	0.789	0.32	0.34	-0.75
			95	0.211			
	n = 46	Mdh-2	110	0.786	0.43	0.34	0.28
			100	0.178			
			90	0.036			
	Alevines						
	Cofradex	Pgm-2	100	0.702	0.44	0.42	0.05
	n= 52		95	0.298			
	n = 81	Mdh-2	110	0.468	0.52	0.50	0.03
			100	0.531			
			90	0.001			

Tabla 6 (Cont.). Valores de frecuencias alélicas, heterocigosidad observada y heterocigosidad esperada para las especies *Salmo salar*, *Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus mykiss* en las muestras de cultivo y de vida libre

Especie	Localidad/ Origen	Loci	Alelos	Frecuencia Alélica	Ho	He	D
	Trout-lodge	Pgm	100	0.932	0.14	0.13	0.07
	n = 117		95	0.068			
	n = 149	Mdh-2	110	0.181	0.36	0.46	-0.22
			100	0.736			
			90	0.081			
	Silvertrout	Pgm	100	0.820	0.36	0.30	0.21
	n = 61		95	0.180			
	n = 107	Mdh-2	110	0.332	0.45	0.50	-0.09
			100	0.626			
			90	0.042			
	Huillinco	Est-1	100	0.625	0.50	0.47	0.06
	n = 20		97	0.375			
		Mdh-2	110	0.650	0.70	0.51	0.37
			100	0.225			
			90	0.125			
	Vida Libre						
	Lago Chapo	Est-1	100	0.786	0.43	0.34	0.26
	n = 20		97	0.214			
		Pgm	100	0.929	0.14	0.13	0.10
			95	0.071			
		Mdh-2	110	0.600	0.80	0.54	0.48
			100	0.100			
			90	0.300			

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Tabla 7. Valores de frecuencias alélicas, heterocigosidad observada para *Oncorhynchus mykiss* silvestres.

LOCALIDAD/ ORIGEN	LOCI	ALELOS	FREC. ALELICAS
Huillín n = 103	Adh-2	100	0.951
		-90	0.049
	Est-1	100	1.000
		94	0.000
	Est-D	100	0.874
		95	0.126
	Idh-3,4	110	0.000
		100	0.743
	Mdh-3,4	90	0.257
		100	0.699
		95	0.228
	Mep-1	90	0.073
		105	0.000
	Mep-2	100	1.000
		100	0.820
	Pgm-1	97	0.180
		110	0.000
	Pgm-2	100	0.000
		100	0.859
		95	0.131
Sod-1	90	0.010	
	115	0.374	
Pescadero n= 13	Adh-2	100	0.626
		-90	0.000
	Est-1	100	0.962
		100	1.004
	Est-D	95	0.000
		94	0.038
	Idh-3,4	110	0.000
		100	0.846
		90	0.154

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Tabla 7 (Cont.). Valores de frecuencias alélicas, heterocigosidad observada para *Oncorhynchus mykiss* silvestres.

LOCALIDAD/ ORIGEN	LOCI	ALELOS	FREC. ALELICAS
	Mdh-3,4	100	0.577
		95	0.231
		90	0.192
	Mep-1	105	0.000
		100	1.000
	Mep-2	100	1.000
		97	0.000
	Pgm-1	110	0.000
		100	0.000
	Pgm-2	100	0.846
		95	0.154
		90	0.000
	Sod-1	115	0.346
		100	0.654
Pilmaiquen n=33	Adh-2	100	0.773
		-90	.0227
	Est-1	100	1.000
		94	0.000
	Est-D	100	0.924
		95	0.076
	Idh-3,4	110	0.212
		100	0.864
		90	0.015
	Mdh-3,4	100	0.636
		95	0.364
		90	0.000
	Mep-1	105	0.985
		100	0.015
	Mep-2	100	0.985
		97	0.015
	Pgm-1	110	0.030

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Tabla 7 (Cont.). Valores de frecuencias alélicas, heterocigosidad observada para *Oncorhynchus mykiss* silvestres.

LOCALIDAD/ ORIGEN	LOCI	ALELOS	FREC. ALELICAS
	Pgm-1	100	0.970
	Pgm-2	100	0.712
		95	0.167
		90	0.121
	Sod-1	115	0.106
		100	0.874

Tabla 8. Test de homogeneidad para las frecuencias alélicas de las diferentes stocks de cultivo comparadas.

Especie	Loci	G
Coho	EST-1	53,365
Trucha	PGM-1	32,088
	MDH-2	105,331

Tabla 9. Prueba de heterogeneidad para frecuencias alélicas entre muestras y valores F_{ST} para 10 loci polimórficos en trucha arcoiris de vida libre.

Locus	X ²	G.L.	F _{ST}	P
Mdh-3,4	14.929	4	0.025	*
Mep-1	3.527	2	0.010	n.s.
Mep-2	16.315	2	0.109	***
ldh-3,4	44.527	4	0.051	***
Sod-1	16.843	2	0.072	***
Pgm-1	7.078	2	0.020	*
Pgm-2	21.282	4	0.023	***
Est-1	10.497	2	0.025	**
Est-D	4.673	2	0.043	n.s.
Adh-2	23.385	2	0.114	***

G.L.=Grados de libertad

***P<0.001. **P<0.01, *P<0.05

F_{ST}= G_{ST}

**ANEXO 2 (TABLAS)
PARAMETROS SANGUINEOS**

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Tabla 1: Valores promedio de los parámetros químico sanguíneos para stock de cultivo de *Salmo salar*, *O. kisutch* y *O. Mykiss* en los estados de alevín juvenil smolt y reproductores.

Especie	Parámetro	n	Alevines	n	Smolt	n	Juveniles	n	Reproductores
<i>Salmo salar</i>	Glucosa (mg/dl)	12	39,5 ± 11,9	24	185,6 ± 22,04	15	76,02 ± 27,94	30	101,02 ± 15,0
	Urea (mg/dl)	6	6,1 ± 2,9	20	9,9 ± 1,8	17	14,02 ± 2,28	30	12,7 ± 2,5
	Creatinina (mg/dl)		nd	23	0,53 ± 0,29	17	0,5 ± 0,02	30	0,82 ± 0,37
	P. totales (g/l)		nd	26	43,5 ± 7,05	17	50,85 ± 6,42	30	51,8 ± 7,2
	Albumina (g/l)	7	8,02 ± 2,97	27	13,5 ± 3,04	17	29,19 ± 5,01	30	12,9 ± 2,4
	GOT (U/l)	15	59 ± 25	30	135 ± 53	15	64,86 ± 14,58	30	116 ± 11
	GPT (U/l)	15	38 ± 5	16	8 ± 14	15	9,27 ± 8,96	30	17 ± 10
	Lípidos tot. (mg/dl)	9	127,51 ± 46,46	15	311,7 ± 67,5	17	523,7 ± 161,6	27	347,4 ± 42,6
	Calcio (mg/dL)		nd	20	10,4 ± 1,0	17	12,3 ± 1,2	27	14,6 ± 1,5
	Fósforo (mg/dL)		nd	13	14,1 ± 3,8	17	13,1 ± 2,4	17	15,9 ± 3,5
<i>O. kisutch</i>	Parámetro	n	Alevines	n	Smolt	n	Juveniles	n	Reproductores
	Glucosa (mg/dl)	39	82,9 ± 42,7	26	150,23 ± 41,19	25	74,5 ± 13,6	33	95,06 ± 20,17
	Urea (mg/dl)	18	14,6 ± 1,8	29	17,94 ± 2,87	30	10,5 ± 1,5	35	17,9 ± 4,3
	Creatinina (mg/dl)		nd	21	3,6 ± 1,6	11	0,3 ± 0,07	14	1,91 ± 0,9
	P. totales (g/l)	39	42,1 ± 6,2	30	38,83 ± 11,87	21	41,8 ± 3,3	32	37,6 ± 6,8
	Albumina (g/l)	37	10,1 ± 1,9	27	18,76 ± 5,53	23	9,4 ± 2,1	31	19,62 ± 3,21
	GOT (U/l)	20	158 ± 45	30	129,00 ± 13,81	28	113 ± 35	31	140,09 ± 22,01
	GPT (U/l)	18	20 ± 13	27	21,66 ± 6,80	17	35 ± 16	31	23,67 ± 18,2
	Lípidos tot. (mg/dl)	18	271,5 ± 66,9	24	245,6 ± 24,5	21	397,3 ± 53,9	24	221,2 ± 58,9
	Calcio (mg/dL)	13	8,9 ± 1,9	24	8,5 ± 1,7	28	7,9 ± 1,8	20	8,3 ± 2,0
Fósforo (mg/dL)	9	16,6 ± 4,0	16	11,6 ± 1,5	15	12,9 ± 3,1	16	15,7 ± 2,8	
<i>O. mykiss</i>	Parámetro	n	Alevines	n	Smolt	n	Juveniles	n	Reproductores
	Glucosa (mg/dl)	15	67,4 ± 47,9	27	139,1 ± 18,2	18	76,1 ± 8,1	32	259 ± 137
	Urea (mg/dl)	15	12,7 ± 4,8	30	8,9 ± 1,3	30	11,4 ± 2,03	23	9,01 ± 1,85
	Creatinina (mg/dl)		nd	30	0,98 ± 0,34	21	0,7 ± 0,2	32	0,17 ± 0,5
	P. totales (g/l)	15	28,3 ± 12,6	24	48,4 ± 5,1	23	48,3 ± 5,5	32	36,8 ± 11,9
	Albumina (g/l)	15	10,6 ± 4,3	25	11,8 ± 1,4	25	13,4 ± 1,7	32	23,9 ± 7,8
	GOT (U/l)	14	67 ± 14	30	91 ± 18	30	101 ± 35	30	77 ± 9
	GPT (U/l)	14	29 ± 5	30	24 ± 18	30	11 ± 10	30	26 ± 9
	Lípidos tot. (mg/dl)	13	239,5 ± 64,6	19	342,5 ± 34,7	23	490,5 ± 53,8	32	213,3 ± 16,8
	Calcio (mg/dL)	27	7,3 ± 1,7	27	7,3 ± 1,7	24	10,2 ± 1,6	27	8,5 ± 1,9
Fósforo (mg/dL)	6	9,2 ± 2,1	18	8,5 ± 1,9	16	15,2 ± 3,4	27	10,0 ± 4,4	

Tabla 2: Valores promedio de los parámetros hematológicos para stock de cultivo de *Salmo salar*, *O. kisutch* y *O. mykiss* en los estados de alevín juvenil smolt y reproductores

Especie	Parámetro	n	Alevines	n	Smolt	n	Juveniles	n	Reproductores
<i>Salmo salar</i>	Hto(%)	16	25,1 ± 5,2	26	43 ± 5,1	15	43,1 ± 2,4	30	42 ± 3,9
	Hb(g/dl)	9	4 ± 0,9	33	7,3 ± 1,2	17	10,3 ± 1,95	30	7,8 ± 0,8
	R. rojos	30	561786 ± 160067	30	503750 ± 100475	17	805411 ± 231153	30	734630 ± 132860
	R. Blancos	30	39571 ± 12679	30	8406 ± 2906	15	30293 ± 10741	30	15796 ± 4412
<i>O. kisutch</i>	Parámetro	n	Alevines	n	Smolt	n	Juveniles	n	Reproductores
	Hto(%)	39	37,2 ± 4,0	32	39,46 ± 3,61	30	40,7 ± 5,3	34	34,64 ± 3,5
	Hb(g/dl)	31	7,55 ± 0,85	26	5,04 ± 0,73	30	7,0 ± 1,14	26	5,04 ± 0,08
	R. rojos	39	822308 ± 258001	30	895588 ± 158200	15	753333 ± 143685	30	868500 ± 164829
R. Blancos	39	12192 ± 6069	30	2298 ± 1934	15	14133 ± 5783	30	10166 ± 4567	
<i>O. mykiss</i>	Parámetro	n	Alevines	n	Smolt	n	Juveniles	n	Reproductores
	Hto(%)	32	25,5 ± 4,5	28	42 ± 5,5	30	43,2 ± 3,6	32	48 ± 10,6
	Hb(g/dl)	31	5,0 ± 1,7	30	6,8 ± 1,9	30	7,6 ± 0,9	31	11,5 ± 2,2
	R. rojos	30	657848 ± 87428	29	508448 ± 93800	29	578966 ± 132506	30	1262267 ± 200159
R. Blancos	30	7834 ± 2870	29	11362 ± 3243	29	12845 ± 4598	28	20830 ± 13884	

Hto = Hematocrito
Hb = Hemoglobina
R. Rojos = Recuento de Glóbulos rojos (Células/mm³)
R. Blancos = Recuento de Glóbulos Blancos (Células/mm³)

Tabla 3: Formula leucocitaria para stock de cultivo de *Salmo salar*, *O. kisutch* y *O. mykiss* en los estados de alevín smolt, juvenil y reproductor.

Especie	Estado	n	Linfocitos	Monocitos	H.maduros	H.inmaduros	Blastos
<i>S. salar</i>	Alevines	12	94 ± 5	1 ± 1	4 ± 4	1 ± 1	-
	Smolt	24	62 ± 9	6 ± 3	24 ± 9	7 ± 4	1 ± 1
	Juveniles	20	88 ± 5	3 ± 1	4 ± 2	4 ± 2	1 ± 1
	Reproduc.	30	73 ± 16	3 ± 1	21 ± 8	2 ± 2	1 ± 1
<i>O. kisutch</i>	Estado	n	Linfocitos	Monocitos	H.maduros	H.inmaduros	Blastos
	Alevines	30	91 ± 5	1 ± 1	6 ± 3	1 ± 1	1 ± 1
	Smolt	27	87 ± 4	2 ± 1	7 ± 2	2 ± 1	2 ± 1
	Juveniles	30	87 ± 7	2 ± 1	9 ± 5	1 ± 1	1 ± 1
	Reproduc.	33	17 ± 11	2 ± 1	68 ± 11	12 ± 6	1 ± 1
<i>O. mykiss</i>	Estado	n	Linfocitos	Monocitos	H.maduros	H.inmaduros	Blastos
	Alevines	20	90 ± 6	4 ± 3	5 ± 3	1 ± 1	1 ± 1
	Smolt	30	91 ± 5	1 ± 1	6 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
	Juveniles	29	84 ± 7	2 ± 1	13 ± 6	1 ± 2	1 ± 3
	Reproduc.	33	5 ± 6	1 ± 1	76 ± 18	17 ± 11	-

H.maduros = Heterófilos maduros
H.inmaduros = Heterófilos inmaduros

Tabla 4: Valores promedio de los parámetros químico sanguíneos para stock silvestre de *Salmo salar*, *O. kisutch* y *O. mykiss* de agua dulce (lago Chapo) y agua de mar (Dalcahue).
Peso Promedio = 700 g.

Parámetro	Especies							
	n	<i>Salmo salar</i>	n	<i>O. kisutch</i>	n	<i>O. mykiss</i> (a.d.)	n	<i>O. mykiss</i> (a.m.)
Glucosa (mg/dl)	11	66,42 ± 17,78	76	86,76 ± 27,30	7	113,97 ± 19,37	3	154,53 ± 57,27
Urea (mg/dl)	9	8,9 ± 2,2	78	11,2 ± 3,2	7	7,17 ± 0,64	3	13,3 ± 3,6
Creatinina (mg/dl)	11	0,06 ± 0,13	66	0,19 ± 0,23	7	0,65 ± 0,53	3	0,24 ± 0,21
P. totales (g/l)	11	48,59 ± 9,14	76	44,99 ± 9,53	7	51,40 ± 7,24	3	54,07 ± 9,57
Albúmina (g/l)	11	14,45 ± 1,99	76	13,85 ± 3,97	7	13,40 ± 3,20	3	18,47 ± 1,14
GOT (U/l)	11	113 ± 52	76	89 ± 38	7	102 ± 40	3	128 ± 65
GPT (U/l)	11	19 ± 12	76	17 ± 10	7	20 ± 13	3	16 ± 11
Lípidos tot. (mg/dl)	9	282,8 ± 64,0	42	245,4 ± 61,9	7	595,9 ± 134,3	3	436,3 ± 82,6
Calcio (mg/dl)	9	12,4 ± 1,4	71	13,1 ± 1,7	6	11,7 ± 1,5	3	13,4 ± 1,3
Fósforo (mg/dl)	4	16,2 ± 4,8	28	17,5 ± 3,5	5	12,7 ± 2,3	2	16,6 ± 4,3

a.d. = agua dulce

a.m. = agua de mar

Tabla 5: Valores promedio de los parámetros hematológicos para stock silvestres de *S. salar*, *O. kisutch* y *O. mykiss* de agua dulce (Lago Chapo) y Agua de mar (Dalcahue)

Parámetro	Especies							
	n	<i>Salmo salar</i>	n	<i>O. kisutch</i>	n	<i>O. mykiss(a.d.)</i>	n	<i>O. mykiss(a.m.)</i>
Hto(%)	11	51,09 ± 10,34	76	51,62 ± 8,98	7	44,14 ± 7,71	3	53 ± 7,21
Hb(g/dl)	11	7,85 ± 2,22	76	8,37 ± 3,15	7	4,54 ± 1,88	3	9,73 ± 1,17
R.rojos	11	843214 ± 309184	76	834051 ± 296453	7	821194 ± 295212	3	55803 ± 371915
R.Blancos	11	11286 ± 5473	76	12923 ± 6457	7	10869 ± 5229	3	8049 ± 3988

Hto = Hematocrito
Hb = Hemoglobina
R.Rojos = Recuento de Glóbulos rojos (Células/mm³)
R.Blancos = Recuento de Glóbulos Blancos (Células/mm³)
a.d. = agua dulce
a.m. = agua de mar

Tabla 6: Fórmula leucocitaria para stock silvestres de *Salmo salar*, *O. kisutch* y *O. mykiss* de agua de mar (Dalcahue) en estado juvenil.

Especie	n	Linfocitos	Monocitos	H. maduro	H. inmaduro	Blastos
<i>S. salar</i>	11	62 ± 15	2 ± 1	32 ± 14	3 ± 2	1 ± 1
<i>O. kisutch</i>	76	61 ± 14	3 ± 2	31 ± 24	4 ± 3	1 ± 1
<i>O. mykiss</i> (a.m.)	3	86 ± 11	1 ± 1	11 ± 9	2 ± 2	1 ± 1

a.m. = agua de mar

Tabla 7: Comparación de parámetros químicos sanguíneos entre stocks silvestres y stocks de cultivo de *S. Salar*, *O. Kisutch* y *O. Mykiss* en estado juvenil (stock silvestres: Dalcahue; stock de cultivo: Río Cudeo).

Parámetro	<i>Salmo salar</i>				<i>Oncorhynchus kisutch</i>				<i>Oncorhynchus mykiss</i>			
	n	Cultivo	n	Vida Libre	n	Cultivo	n	Vida Libre	n	Cultivo	n	Vida Libre
Glucosa (mg/dl)	15	76,02 ± 27,94	11	66,42 ± 17,78	25	74,5 ± 13,6	76	86,76 ± 27,30	18	76,1 ± 8,1*	3	154,53 ± 57,27
Urea (mg/dl)	17	14,02 ± 2,28	9	8,9 ± 2,2*	30	10,5 ± 1,5	78	11,2 ± 3,2	30	11,4 ± 2,03	3	13,3 ± 3,6
Creatinina (mg/dl)	17	0,5 ± 0,02	11	0,06 ± 0,13*	11	0,3 ± 0,07	66	0,19 ± 0,23	21	0,7 ± 0,2*	3	0,24 ± 0,21
P.totales (g/l)	17	50,85 ± 6,42	11	48,59 ± 9,14	21	41,8 ± 3,3	76	44,99 ± 9,53	23	48,3 ± 5,5	3	54,07 ± 9,57
Albumina (g/l)	17	29,19 ± 5,01*	11	14,45 ± 1,99	23	9,4 ± 2,1*	76	13,85 ± 3,97	25	13,4 ± 1,7*	3	18,47 ± 1,14
GOT (U/l)	15	64,86 ± 14,58	11	113 ± 52*	28	113 ± 35	76	89 ± 38	30	101 ± 35	3	128 ± 65
GPT (U/l)	15	9,27 ± 8,96	11	19 ± 12*	17	35 ± 16*	76	17 ± 10	30	11 ± 10	3	16 ± 11
Lípidos tot. (mg/dl)	17	523,7 ± 161,6	9	282,8 ± 64,0*	21	397,3 ± 53,9*	42	245,4 ± 61,9	23	490,5 ± 53,8	3	436,3 ± 82,6
Calcio (mg/dl)	17	12,3 ± 1,2	9	12,4 ± 1,4	28	7,9 ± 1,8	71	13,1 ± 1,7	24	10,2 ± 1,6	3	13,4 ± 1,3
Fósforo (mg/dl)	17	13,1 ± 2,4	4	16,2 ± 4,8	15	12,9 ± 3,1	28	17,5 ± 3,5	16	15,2 ± 3,4	2	16,6 ± 4,3

* $p << 0,05$

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo.

Tabla 8: Comparación de parámetros hematológicos entre stock de cultivo y stock de vida libre de *S. salar* y *O. mykiss* en estado juvenil (stock silvestres: Dalcahue,; stocks de cultivo: Río Cudeo)

Parámetro	<i>Salmo Salar</i>				<i>Oncorhynchus kisutch</i>				<i>Oncorhynchus mykiss</i>			
	n	Cultivo	n	Vida Libre	n	Cultivo	n	Vida Libre	n	Cultivo	n	Vida Libre
Hto(%)	15	43,1 ± 2,4*	11	51,09 ± 10,34	30	40,7 ± 5,3*	76	51,62 ± 8,98	30	43,2 ± 3,6*	3	53 ± 7,21
Hb(g/dl)	17	10,3 ± 1,95*	11	7,85 ± 2,22	30	7,0 ± 1,14	76	8,37 ± 3,15	30	7,6 ± 0,9*	3	9,73 ± 1,17
R.rojos	17	805411 ± 231153	11	843214 ± 309184	15	753333 ± 143685	76	834051 ± 296453	29	578966 ± 132506	3	55803 ± 371915
R.Blancos	15	30293 ± 10741*	11	11286 ± 5473	15	14133 ± 5783	76	12923 ± 6457	29	12845 ± 4598	3	8049 ± 3988

Hto = Hematocrito

Hb = Hemoglobina

R. Rojos = Recuento de Glóbulos rojos (Células/mm³)

R. Blancos = Recuento de Glóbulos Blancos (Células/mm³)

* p << 0,05

Tabla 9: Fórmula leucocitaria para stock de cultivo y stock de vida libre de *S.salar*, *O. kisutch* y *O. mykiss* en estado juvenil (stock silvestres: Dalcahue; stock de cultivo: Río Cude)

Especies	Estado	Linfocitos	Monocitos	H.maduro	H.inmaduro	Blastos
<i>S.salar</i>	Cultivo	62 ± 15*	2 ± 1	32 ± 14 *	3 ± 2	1 ± 1
	Vida libre	88 ± 5	3 ± 1	4 ± 2	4 ± 2	1 ± 1
<i>O.kisutch</i>	Estado	Linfocitos	Monocitos	H.maduro	H.inmaduro	Blastos
	Cultivo	61 ± 14*	3 ± 2	31 ± 24*	4 ± 3	1 ± 1
	Vida libre	87 ± 7	2 ± 1	9 ± 5	1 ± 1	1 ± 1
<i>O.mykiss</i>	Estado	Linfocitos	Monocitos	H.maduro	H.inmaduro	Blastos
	Cultivo	84 ± 7	2 ± 1	13 ± 6	1 ± 2	1 ± 3
	Vida libre	86 ± 11	1 ± 1	11 ± 9	2 ± 2	1 ± 1

* $p < 0,05$

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo

Tabla 10: Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para *O. kisutch*, del stock de cultivo (estado de reproductores).

Parámetro	n	Hembras	n	Machos
Glucosa (mg/dl)	15	181,6 ± 67,3	18	150,9 ± 89,0
Albumina (g/l)	15	28,2 ± 12,0*	18	18,5 ± 7,1
P. Totales (g/l)	15	47,9 ± 12,4*	18	33,4 ± 16,6
Urea (mg/dl)	15	19,1 ± 3,6	18	19,3 ± 4,3
GOT (U/l)	15	131,3 ± 15,5	18	139,9 ± 23,2
GPT (U/l)	15	18,5 ± 6,3*	16	26,4 ± 14,6
Lípidos Tot. (mg/dl)	15	235,2 ± 67,6	16	233,4 ± 106,6
Creatinina (mg/dl)	13	0,3 ± 0,6	13	2,2 ± 1,6
Fósforo (mg/dl)	10	15,4 ± 3,2	6	16,2 ± 1,7
Hemoglobina (g/dl)	15	7,0 ± 0,7	18	7,9 ± 1,1
Hematocrito (%)	15	38,2 ± 2,8	18	40,7 ± 5,6

* $p << 0,05$

Tabla 11: Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para *O. mykiss*, del stock de cultivo (estado de reproductores).

Parámetro	n	Hembras	n	Machos
Glucosa (mg/dl)	13	310,0 ± 134,0	15	203,5 ± 125,3
Albumina (g/l)	13	21,8 ± 9,3	15	26,6 ± 5,4
P. Totales (g/l)	13	36,6 ± 13,7	15	39,6 ± 9,5
Urea (mg/dl)	13	8,5 ± 4,1	15	10,6 ± 4,5
GOT (U/l)	16	77,2 ± 8,2	16	77,4 ± 9,2
GPT (U/l)	14	20,1 ± 7,6	16	23,4 ± 9,1
Lípidos Tot. (mg/dl)	13	234,3 ± 106,9	15	305,5 ± 94,4*
Fósforo (mg/dl)	14	6,7 ± 1,9	13	13,6 ± 3,5
Hemoglobina (g/dl)	15	12,9 ± 1,4	15	11,0 ± 1,1
Hematocrito (%)	13	41,0 ± 10,4	15	56,3 ± 6,4 *

* $p << 0,05$

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo

Tabla 12: Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para *Salmo salar*, para el estado smolt (stock de cultivo).

Parámetro	n	Hembras	n	Machos
Glucosa (mg/dl)	12	208,9 ± 45,8	14	189,4 ± 54,2
Albumina (g/l)	12	16,2 ± 6,9	14	15,0 ± 9,5
P. Totales (g/l)	12	53,0 ± 35,0	14	47,5 ± 34,3
Urea (mg/dl)	12	10,5 ± 4,7	14	10,6 ± 4,0
GOT (U/l)	12	140,2 ± 50,8	14	123,3 ± 25,3
GPT (U/l)	10	6,0 ± 3,7	11	2,4 ± 2,2
Lípidos Tot. (mg/dl)	9	329,1 ± 88,2	8	315,2 ± 105,6
Creatinina (mg/dl)	10	0,4 ± 0,4	13	0,4 ± 0,3
Calcio (mg/dl)	9	10,2 ± 1,0	8	10,6 ± 0,8
Fósforo (mg/dl)	5	16,7 ± 2,1	15	12,9 ± 3,6
Hemoglobina (g/dl)	7	7,4 ± 0,5	13	7,4 ± 1,4
Hematocrito (%)	12	46,1 ± 2,8	15	42,1 ± 4,9

* $p << 0,05$

Tabla 13: Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para *O. mykiss*, para el estado smolt (stock de cultivo).

Parámetro	n	Hembras	n	Machos
Glucosa (mg/dl)	13	136,9 ± 17,4	15	161,1 ± 84,0
Albumina (g/l)	13	11,3 ± 2,4	15	11,4 ± 1,6
P. Totales (g/l)	13	47,7 ± 10,6	15	47,6 ± 10,1
Urea (mg/dl)	13	8,8 ± 1,3	15	9,0 ± 1,4
GOT (U/l)	13	93,2 ± 19,2	15	90,7 ± 17,6
GPT (U/l)	12	27,8 ± 6,1	14	30,8 ± 5,4
Lípidos Tot. (mg/dl)	13	395,4 ± 85,8	15	366,1 ± 79,5
Creatinina (mg/dl)	13	0,9 ± 0,3	15	1,0 ± 0,3
Calcio (mg/dl)	13	7,3 ± 2,5	14	6,2 ± 1,2
Fósforo (mg/dl)	7	8,7 ± 2,3	8	8,4 ± 1,5
Hemoglobina (g/dl)	13	7,2 ± 0,8	15	6,5 ± 1,2
Hematocrito (%)	13	43,0 ± 3,2	15	42,1 ± 7,0

* $p << 0,05$

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo

Tabla 14: Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para *O. Kisutch* de stock de vida libre (Dalcahue).

Parámetro	n	Hembras	n	Machos
Glucosa (mg/dl)	33	89,5 ± 25,4	39	84,0 ± 29,4
Albumina (g/l)	33	14,8 ± 3,4	39	13,1 ± 4,2
P. Totales (g/l)	33	46,0 ± 10,4	39	43,2 ± 10,4
Urea (mg/dl)	34	10,5 ± 2,9	37	11,7 ± 3,3
GOT (U/l)	32	87,2 ± 35,2	31	88,9 ± 37,8
GPT (U/l)	33	17,4 ± 10,2	37	17,2 ± 10,8
Lípidos Tot. (mg/dl)	20	244,3 ± 44,5	21	234,1 ± 70,4
Calcio (mg/dl)	34	13,3 ± 1,8	37	12,9 ± 2,0
Fósforo (mg/dl)	14	18,1 ± 3,5	14	17,4 ± 3,6
Hemoglobina (g/dl)	33	8,5 ± 2,7	33	8,5 ± 3,5
Hematocrito (%)	33	52,4 ± 8,9	33	51,5 ± 8,4

* $p << 0,05$

Tabla 15: Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para *Salmo salar* de stock de vida libre (Dalcahue).

Parámetro	n	Hembras	n	Machos
Glucosa (mg/dl)	7	60,0 ± 12,3	2	93,1 ± 7,4*
Albumina (g/l)	7	14,8 ± 2,1	2	15,5 ± 0,1
P. Totales (g/l)	7	46,2 ± 5,0	2	60,0 ± 18,5*
Urea (mg/dl)	7	9,5 ± 2,0	2	7,0 ± 0,3
Lípidos Tot. (mg/dl)	6	245,2 ± 34,2		
Calcio (mg/dl)	7	12,4 ± 1,4	2	12,4 ± 0,8
Fósforo (mg/dl)	5	16,3 ± 3,4	1	11,2 ± 0,4*
Hemoglobina (g/dl)	7	8,6 ± 1,9	2	5,5 ± 1,8
Hematocrito (%)	7	53,6 ± 8,1	2	45,0 ± 11,3

* $p << 0,05$

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo

Tabla 16: Comparación entre macho y hembra de los parámetros hematológicos y químico sanguíneos para *O. mykiss*, de stock de vida libre (Lago Chapo).

Parámetro	n	Hembras	n	Machos
Glucosa (mg/dl)	4	144,3 ± 44,2	5	110,6 ± 21,7
Albúmina (g/l)	4	16,8 ± 2,9	5	13,5 ± 3,8*
P. Totales (g/l)	4	41,6 ± 22,7	5	51,6 ± 8,0
Urea (mg/dl)	4	11,6 ± 3,9	5	7,3 ± 0,5*
Lípidos Tot. (mg/dl)	4	436,3 ± 82,6	5	571,5 ± 132,4
Creatinina (mg/dl)	4	0,3 ± 0,2	5	0,7 ± 0,6
Calcio (mg/dl)	4	12,6 ± 1,7	5	11,6 ± 1,7
Fósforo (mg/dl)	3	14,3 ± 4,1	4	13,4 ± 1,6
Hemoglobina (g/dl)	4	8,1 ± 2,9	5	4,7 ± 2,2*
Hematocrito (%)	4	48,2 ± 9,7	5	46,4 ± 7,5

* $p << 0,05$

FIP 95-35: Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo