



115
24

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

Determinación del Tiempo Óptimo de la Aplicación
de la Prostaglandina F₂ Alfa para la
Sincronización de Estros en Ovinos.

T E S I S

Que para obtener el Título de:

Médico Veterinario Zootecnista

Presenta:

Lidia Elba Herrera Hernández

Asesores: M. V. Z. Deborah Feldman Steele
M. V. Z. Luis Zarco Quintero
M. V. Z. Javier Valencia Méndez
M. V. Z. Antonio Ortiz Hernández
M. V. Z. Sergio Angeles Campos





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	7
RESULTADOS.....	9
DISCUSION.....	15
LITERATURA CITADA.....	17

RESUMEN

HERRERA HERNANDEZ, LIDIA ELBA. Determinación del tiempo óptimo de la aplicación de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ para la sincronización de estros en ovinos (bajo la dirección de : Deborah Feldman Steele, Luis Zarco Quintero, Javier Valencia Méndez, Antonio Ortíz Hernández y Sergio Angeles Campos).

El propósito del trabajo fue el de evaluar la sincronización del estro en ovejas mediante la aplicación de $PGF_{2\alpha}$ en diferentes días del ciclo estral, comprobando la respuesta luteolítica a través de la medición de los niveles de progesterona sérica para determinar el día óptimo de aplicación. Se utilizaron 34 ovejas Suffolk adultas en el Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria, 10 animales fueron inyectados con 15 mg de $PGF_{2\alpha}$ (Dinoprost-Trometamina)* por vía intramuscular durante la fase lútea temprana, 12 animales durante la fase de madurez del cuerpo lúteo y 12 animales durante la fase lútea tardía. Se tomaron muestras de sangre para la determinación de progesterona el día anterior, el día de la aplicación, los tres días siguientes y al noveno día de la aplicación. La determinación de progesterona se realizó por radioinmunoanálisis en fase sólida. El 12% de las ovejas (4/34) no

* Lutalyse M.R., Lab. Tuco división veterinaria Upjohn, Co.

respondieron a la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$, al no lizar el cuerpo lúteo, estas ovejas fueron inyectadas en los días 7,9,10 y 10 del ciclo estral. La aplicación de prostaglandina, entre los días 4 a 6 (grupo I), 7 a 10 (grupo II) y 11 a 14 (grupo III) indujo celo en un periodo de 72 horas en el 100, 66 y 100% de las hembras respectivamente. Hubo diferencia significativa ($P<0.05$) en el grupo II con respecto al grupo III. La mayor concentración de progesterona se encontró entre los días 7 y 10 (2.65 ng/ml). Se observó que las fallas ocurrieron entre los días 7 y 10, cuando el cuerpo lúteo alcanza su mayor funcionalidad, y no al inicio de la fase lútea.

I N T R O D U C C I O N

La inducción de la presentación de los estros de una población de hembras, de tal forma que ocurran en un tiempo reducido (2 o 3 días) se conoce como sincronización de estros (7).

En la producción de animales domésticos el control de la presentación del estro puede ayudar a mejorar la eficiencia reproductiva de estos animales. Al sincronizar el estro de la oveja se puede controlar la fecha de parto, con lo que se logra mayor uniformidad en la edad de los recién nacidos, lo que facilitaría el cuidado de las crías. Además, podrían programarse mejor los trabajos relacionados con el apareamiento y lograr sin duda una utilización más eficiente de los medios disponibles (1,17,18,30).

Los experimentos actuales se centran en el empleo de la terapia hormonal para sincronizar en forma más precisa la iniciación del estro (17,18).

El desarrollo de nuevos agentes terapéuticos hormonales altamente específicos, derivados de las hormonas naturales, ha aumentado y perfeccionado las posibilidades terapéuticas.

La capacidad de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) para inducir luteólisis en vacas, ovejas, yeguas y en otras especies ha estimulado el estudio de su empleo como posible agente de control del estro (7,9,16,17).

Las prostaglandinas son sustancias orgánicas extremadamente potentes que se producen de modo natural en gran variedad de tejidos y que intervienen en casi todas las funciones

orgánicas. Su descubrimiento fue hecho por el investigador sueco Von Euler (1934) quien demostró que los extractos de semen humano y de diversas especies animales poseen acción espasmógena sobre la musculatura lisa. Supuso su origen prostático, por lo que denominó a este factor espasmógeno prostaglandina (PG) (16,17,29).

En los animales domésticos la prostaglandina más importante involucrada en el proceso reproductivo parece ser la $PGF_{2\alpha}$ (17).

La $PGF_{2\alpha}$ tiene un efecto luteolítico poderoso en la oveja. Al provocarse la regresión prematura del cuerpo lúteo se interrumpe la fase progestacional del ciclo estral iniciándose así un nuevo ciclo (7).

La prostaglandina no induce la actividad ovárica, sólo actúa sobre los cuerpos lúteos formados (7,27), por lo que los tratamientos de $PGF_{2\alpha}$ no pueden utilizarse para inducir estro en ovejas prepúberes o anéstricas porque no tienen cuerpos lúteos funcionales (11,27).

Para responder a la acción de la $PGF_{2\alpha}$, el cuerpo lúteo debe tener como mínimo unos 5 días de vida; por lo tanto sólo responden a la prostaglandina los animales que están ciclando normalmente y que se encuentran como mínimo en el día 5 de su ciclo estral (7,11,12,14,16,20,26,27). Teniendo en cuenta lo anterior, si se aplica $PGF_{2\alpha}$ a una población de ovejas con actividad cíclica normal, se esperaría que aproximadamente el 65% a 70% de ellas (las que están entre los días 6 y 16 del ciclo estral), presentarían estro dentro de los 3 días si-

güentes al tratamiento (7). Sin embargo, otros autores han encontrado que en ovejas en una etapa tan temprana como los días 3-4 del ciclo también existe una luteólisis y muestran comportamiento estral (8,14).

Parece ser que la respuesta a la $PGF_{2\alpha}$ varía de acuerdo a el día de administración de la droga, por lo que se considera que existen diferencias en la presentación del estro dependiendo del día del ciclo en que se aplique la prostaglandina (8,14,27). Al aplicar $PGF_{2\alpha}$ en una dosis de 15 mg en el día 9 del ciclo, dió como resultado que el 86% de las hembras presentaron estro 2 a 3 días después del tratamiento, mientras que con una dosis de 16 mg entre los días 7 y 9 del ciclo, el 66% de las hembras presentó estro 2 a 3 días después del tratamiento (20).

La actividad del cuerpo lúteo se ve reflejada por los cambios en la concentración de progesterona durante el ciclo estral de la oveja (3,25). Para determinar los niveles séricos de progesterona se hace uso del radioinmunoanálisis (RIA), mé todo altamente sensible (8,18).

Durante el ciclo estral de la oveja la concentración de progesterona en la circulación periférica sufre alteraciones cíclicas. Los niveles más bajos (0.1-0.2 ng/ml) se aprecian durante los 3 primeros días después del estro, que es considerado como día 0. A partir del 4o. día del ciclo estral los niveles de progesterona empiezan a elevarse, para volver a bajar a partir del día 14 o 15 del ciclo (6,19,23,28), la luteólisis se manifiesta por una caída en los niveles de progesterona.

rona y retorno a estro (14,22).

Las divergencias de opinión en los niveles de concentración y la duración de los picos de progesterona durante las distintas fases del ciclo entre los diferentes autores, pueden ser debidas a las técnicas de análisis utilizadas y a las razas ovinas estudiadas (3,6,13,28,31).

Teniendo como hipótesis que la respuesta a la aplicación de prostaglandinas es diferente dependiendo del día del ciclo estral en que se aplique, el propósito del presente trabajo consistió en evaluar la sincronización del estro en un grupo de ovejas mediante la aplicación de $PGF_{2\alpha}$ en diferentes días del ciclo estral, evaluándose la respuesta luteolítica a través de la medición de los niveles de progesterona sérica para determinar el día óptimo de aplicación.

MATERIAL Y METODOS

La investigación se realizó en el Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria (C.O.P.E.A.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

La explotación es de tipo intensivo (alojamiento en corrales con capacidad para 40 animales, cuentan con comedero, bebedero y piso de cemento con declive) y la alimentación de las ovejas es con base en heno de avena y concentrado (15% P.C. integrado por sorgo y maíz principalmente).

Animales

Para el presente estudio se seleccionaron 34 ovejas de la raza Suffolk cuyas edades fluctuaron entre 1 y 7 años y con 1 a 6 partos.

Metodología

La detección del celo fue realizada dos veces al día mediante carneros vasectomizados.

Las ovejas fueron divididas en grupos de tres de acuerdo al día de aplicación de la prostaglandina, a partir del día 4 hasta el día 14 del ciclo estral (el día que principia el estro es referido como día 0). Las 34 ovejas se trataron con PGF_{2α} (Dinoprost-Trometamina)* con una dosis de 15 mg por animal (4,10,20), aplicada por vía intramuscular.

* Lutalyse M.R., Lab. Tuco división veterinaria Upjohn, Co.

Se tomaron muestras de sangre de la vena yugular con tubos Vacutainer, el día anterior y el día de la aplicación de PGF_{2 α} , posteriormente se tomaron muestras durante los tres días siguientes y al noveno día de la aplicación.

La toma de muestras se realizó a la misma hora cada día. Inmediatamente después de obtener la muestra, se enfrió introduciéndola en un recipiente con agua y hielo. Posteriormente las muestras se sacaron del recipiente y se mantuvieron en refrigeración durante 24 horas aproximadamente. Se extrajo el suero con pipetas Pasteur y se conservó en congelación a -15°C hasta el momento en que fueron procesadas para determinar los niveles de progesterona mediante el método de radioinmunoanálisis (21) en el laboratorio de Endocrinología de la Facultad.

Los criterios para determinar la luteólisis como respuesta a la aplicación de PGF_{2 α} fueron:

- 1) La caída de la concentración de progesterona a niveles basales y,
- 2) La presentación del comportamiento estral dentro de las 72 horas siguientes al tratamiento.

La evaluación estadística se realizó mediante un análisis de varianza y la prueba de t de Student para comparar los niveles promedio de progesterona y las pruebas de χ^2 y prueba exacta de Fisher para evaluar a las ovejas en estro después del tratamiento (5,24).

R E S U L T A D O S

El patrón de los cambios en la concentración de progesterona fue similar para todas las ovejas en este estro inducido, además de que siguió al patrón típico de un ciclo estral natural (Figura 1).

La mayor concentración de progesterona sérica se observó durante los días 7 al 14 del ciclo estral, siendo diferente a los niveles encontrados entre los días 4 al 6 ($P < 0.01$) (Cuadro 1).

Durante y después del estro la concentración de progesterona sérica fue menor a 0.05 ng/ml, hasta el 3er. día los niveles se mantuvieron por debajo de 0.50 ng/ml y a partir del 4o. día empezaron a elevarse.

Se consideró que respondieron al tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ aquellas ovejas que presentaron celo dentro del tiempo indicado y con una disminución en la concentración de progesterona sérica, que fue menor a 0.27 ng/ml en promedio (cantidad considerada como nivel basal) (Cuadro 1).

A las 48 horas el 76% ($n=26$) de las ovejas presentó comportamiento estral y a las 72 horas el porcentaje ascendió a 88% ($n=30$) (Cuadro 2). A las 48 horas no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) en la respuesta entre los grupos en relación al día de la aplicación, mientras que a las 72 horas, se observó que el 66% de las hembras en las cuales se aplicó entre los días 7 y 10 mostraron estro a diferencia del 100% en los otros grupos. Existió una diferencia significativa ($P < 0.05$) en el número de ovejas que respondieron al tratamien

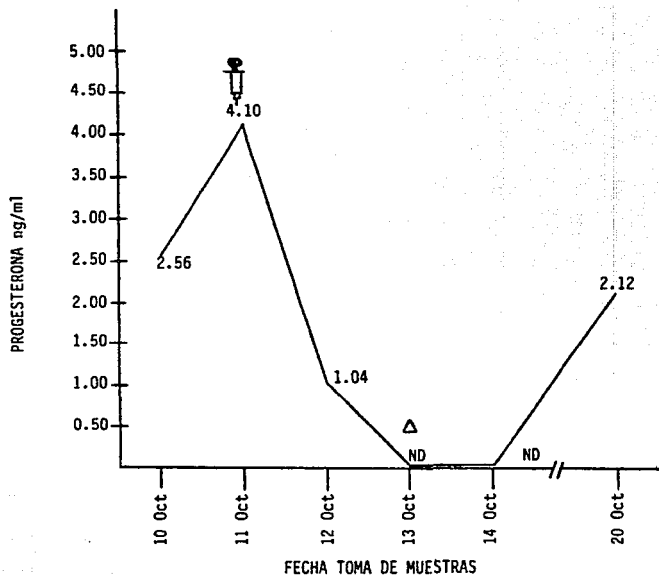


FIGURA 1. CONCENTRACION DE PROGESTERONA SERICA EN UNA OVEJA TRATADA EN EL DIA 11 CON PGF_{2α} Y QUE SI RESPONDIO AL TRATAMIENTO. (ND= NO DETECTABLE) (Δ=CELO).

CUADRO 1. NIVELES DE PROGESTERONA EN LAS OVEJAS ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO CON PGF2 α EN DIFERENTES DIAS DEL CICLO ESTRAL.

DIAS DEL CICLO AL APLICAR LA PGF2 α	No. DE ANIMALES	CONCENTRACION DE PROGESTERONA ng/ml EN EL DIA DE APLICACION (\bar{x} \pm d.e.)	No. DE ANIMALES	CONCENTRACION DE PROGESTERONA ng/ml EN EL DIA DEL ESTRO. (\bar{x} \pm d.e.)
4 a1 6	10	0.93 \pm 0.33 ^a	10	0.09 \pm 0.20
7 a1 10	12	2.65 \pm 1.40 ^{bc}	8	0.27 \pm 0.42
11 a1 14	12	2.33 \pm 1.41 ^c	12	0.05 \pm 0.10

Valores que no comparten por lo menos una literal son estadfisticamente diferentes (P<0.05)

CUADRO 2. OVEJAS EN ESTRO DESPUES DEL TRATAMIENTO CON PGF2 α EN DIFERENTES DIAS DEL CICLO ESTRAL.

DIAS DEL CICLO EN QUE SE REALIZO EL TRATAMIENTO	No. DE OVEJAS EN ESTRO(%)		SINCRONIZADAS n (%)	NO RESPONDIERON AL TRATAMIENTO	No. TOTAL DE ANIMALES
	48 hrs.	72 hrs.			
4 a1 6	9 (90.0)	1 (10.0)	10 (100.0) ^{ab}		10
7 a1 10	7 (58.3)	1 (8.3)	8 (66.6) ^a	4 (33.3)	12
11 a1 14	10 (83.3)	2 (16.6)	12 (100.0) ^b		12
TOTALES (%)	26 (76.5)	4 (11.7)		4 (11.7)	34 (100.0)

Valores que no comparten por lo menos una literal son estadfsticamente diferentes (P<0.05)

to de prostaglandina efectuado entre los días 7 al 10 del ciclo estral con respecto al grupo tratado entre los días 11 al 14.

La prostaglandina no siempre induce la luteólisis como se puede observar en la figura 2, en donde la progesterona decreció temporalmente, pero se volvió a recuperar y finalmente la oveja, presentó celo el día correspondiente a su ciclo estral normal. El 12% (4/34) de las ovejas no respondió al tratamiento (Cuadro 2).

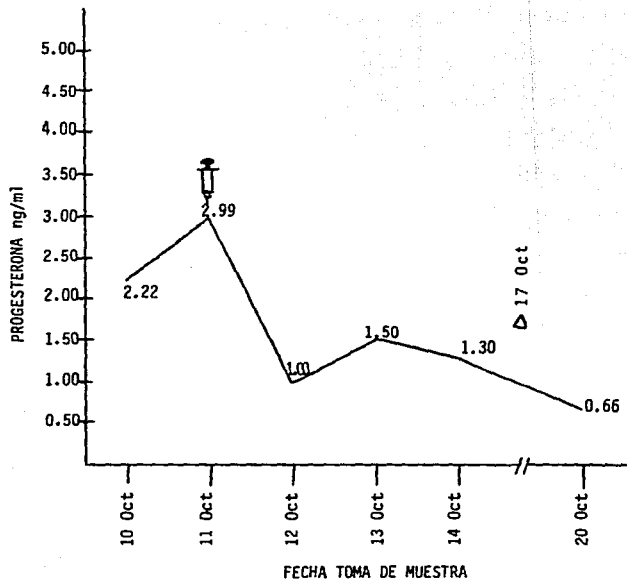


FIGURA 2. NIVELES DE PROGESTERONA SERICA EN UNA OVEJA TRATADA CON PGF2 α EN EL DIA 10 DEL CICLO ESTRAL, LA CUAL NO RESPONDIO AL TRATAMIENTO (Δ = CELO).

D I S C U S I O N

Los resultados indican que la inyección única de 15 mg im de $\text{PGF}_{2\alpha}$, aplicada entre los días 4 y 14 del ciclo estral provocó el rápido decremento en las concentraciones de progesterona, y la regresión lútea inducida fue seguida por un alto grado de sincronización en el retorno a estro, lo cual claramente indica la actividad luteolítica potente de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Dinoprost-Trometamina) en la oveja.

Las razones por las que 4 ovejas (días 7,9,10 y 10) no respondieron al tratamiento no pudieron ser determinadas; sin embargo, es probable que debido a que la máxima secreción de progesterona ocurre durante los días 10 y 11, la dosis administrada no fue suficiente para provocar la luteólisis estructural irreversible (2,15), solamente se consiguió una luteólisis funcional pues descendieron un poco los niveles de progesterona pero no tanto como para lograr la regresión lútea. Para apoyar este concepto, ha sido demostrado que cuando la liberación endógena de $\text{PGF}_{2\alpha}$ al final del ciclo estral de la oveja es insuficiente se produce una baja temporal en la actividad del cuerpo lúteo, el cual no llega a sufrir regresión estructural, y se mantiene indefinidamente en el ovario (32).

Se pudo corroborar lo informado por algunos investigadores acerca de que en ovejas en una etapa tan temprana como los días 4 y 5 del ciclo estral ocurre luteólisis al administrar $\text{PGF}_{2\alpha}$, ya que el 100% de las ovejas de este grupo mostraron celo 72 horas después de la inyección (8,14).

La mayoría de los autores opinan que el cuerpo lúteo debe tener cierto grado de madurez antes de poder responder a las prostaglandinas (7,11,12,14,16,20,26,27); por esta razón se esperaba que el tratamiento fallara en la fase lútea temprana. Sin embargo, en este trabajo no hubo fallas en dicha fase. En contraste, se produjeron fallas justamente cuando el cuerpo lúteo se encontraba en plena madurez (días 7-10 del ciclo), lo que tampoco concuerda con lo esperado.

Se recomienda la ampliación de la investigación como una continuación de la misma, pero comprendiendo un mayor número de animales por grupo especialmente ovejas que se encuentren entre los días 7 y 10 del ciclo estral, para ratificar la información obtenida; e incluso de ser posible aplicar el tratamiento a lo largo del ciclo estral.

L I T E R A T U R A C I T A D A

1. Acritopoulou-Fourcroy, S., Pappas, V., Peclaris, G. and Zervas, N.: Synchronization of oestrus in ewes with Provera sponges/PMSG, prostaglandin $F_{2\alpha}$ or the prostaglandin analogue, ICI 80996, and fertility following mating or artificial insemination. Reprod. Nutr. Dev., 22: 345-354 (1982).
2. Baird, D.T. and Scaramuzzi, R.J.: Prostaglandin $F_{2\alpha}$ and luteal regression in the ewe: comparison with 16 Aryloxy-prostaglandin (I.C.I. 80,996). Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 15: 161-174 (1975).
3. Cunningham, N.F., Symons, A.M. and Saba, N.: Levels of progesterone, LH and FSH in the plasma of sheep during the oestrus cycle. J. Reprod. Fert., 45: 177-180 (1975).
4. Churchill, L.D. and Slyter, A.L.: Reproductive performance of ewes following prostaglandin $F_{2\alpha}$ administration during the normal breeding season. J. Anim. Sci., 53 Suppl 1: 107-108 (1981).
5. Daniel, W.W.: Bioestadística: Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Limusa, México, D.F., 1979.
6. Espinosa Velázquez, E.: El control del ciclo genital en la especie ovina. An. Fac. Vet., Univ. Zaragoza, 10: 199-235 (1975).
7. Fernández-Baca, S.: Aspectos Reproductivos de la oveja. Memorias del Curso de Actualización de Aspectos de Producción Ovina. México, D.F. 1979. 76-89. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

(1979).

8. Fukui, Y. and Roberts, E.M.: Fertility of ewes treated with prostaglandin $F_{2\alpha}$ and artificially inseminated at predetermined intervals thereafter. Aust. J. Agric. Res., 28: 891-897 (1977).
9. Goding, J.R.: The demonstration that $PGF_{2\alpha}$ is the uterine luteolysin in the ewe. J. Reprod. Fert., 38: 261-271 (1974).
10. Hackett, A.J. and Robertson, H.A.: Effect of dose and time of injection of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in cycling ewes. Theriogenology, 13: 347-351 (1980).
11. Hafez, E.S.E.: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 4a. ed. Interamericana, México, D.F., 1985.
12. Hansel, W. and Convey, E.M.: Physiology of the estrous cycle. J. Anim. Sci., 57 Suppl 2: 404-424 (1983).
13. Hansel, W. and Echterkamp, S.E.: Control of ovarian function in domestic animals. Amer. Zool., 12: 225-243 (1972).
14. Hearnshaw, H., Restall, B.J. and Gleeson, R.: Observations on the luteolytic effects of prostaglandin $F_{2\alpha}$ during the oestrus cycle and early pregnancy in the ewe. J. Reprod. Fert., 32: 322-323 (1973).
15. Horton, E.W. and Poyser, N.L.: Uterine luteolytic hormone: A physiological role for prostaglandin $F_{2\alpha}$. Physiol. Rev., 56: 595-1157 (1976).
16. Inskeep, E.K.: Potential uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals. J. Anim. Sci., 36: 1149-1157 (1973).

17. Mc Donald, L.E.: Reproducción y Endocrinología Veterinarias. 2a. ed. Interamericana, México, D.F., 1983.
18. Pérez García, T.: Control biológico de la reproducción en la oveja de raza Manchega (Sincronización del celo). Rvta. Patron. Biol. Anim., 14: 285-337 (1970).
19. Pijoan Aguadé, P.J.J.: Aspectos endocrinos en diversas fases reproductivas de las ovejas. Vet. Méx., 14: 229-246 (1983).
20. Quinlivan, T.D.: Estrous Synchronization and Control of the Estrous Cycle. In: Current Therapy in Theriogenology. Edited by Morrow, D. 950-954. W.B.Saunders, Philadelphia, 1980.
21. Ramírez, A.B. y Valencia, M.J.: Validación del radioinmunoanálisis (RIA) I^{125} fase sólida en suero de ovejas Tabasco. Memorias de la X Reunión Alpa. Acapulco, México, 1985. 74. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Acapulco, México (1985).
22. Restall, B.J., Hearnshaw, H.R., Gleeson, A.R. and Thorburn, G.D.: Observations on the luteolytic action of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in the ewe. J. Reprod. Fert., 32: 325-326 (1973).
23. Sarda, I.R., Robertson, H.A. and Smeaton, T.C.: Sequential changes in plasma progesterone levels in the ewe during the oestrus cycle and during pregnancy in intact and ovariectomized sheep. Can. J. Anim. Sci., 53: 25-34 (1973).
24. Siegel, S.: Nonparametric Statistics: for the Behavioral Sciences. Mc Graw-Hill, New York, 1956.
25. Stormshak, F., Inskoop, E.K., Lynn, J.E., Pope, A.L. and Casi

- da, L.E.: Progesterone levels in corpora lutea and ovarian effluent blood of the ewe. J. Anim. Sci., 22: 1021-1026 (1963).
26. Thimonier, J.: Hormonal control of oestrous cycle in the ewe (A review). Livestock Prod. Sci., 6: 39-50 (1979).
27. Thimonier, J.: Practical uses of prostaglandins in sheep and goats. Acta Vet. Scand., Suppl 77: 193-208 (1981).
28. Thorburn, G.D., Bassett, J.M. and Smith, I.D.: Progesterone concentration in the peripheral plasma of sheep during the oestrus cycle. J. Endocr., 45: 459-469 (1969).
29. Walpole, A.L.: Characteristics of prostaglandins. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 15: 389-406 (1975).
30. Wright, R.V.: Estrus synchronization and superovulation in sheep and goats. Mod. Vet. Pract., 64: 481-485 (1983).
31. Yuthasastrakosol, P., Palmer, W.M. and Howland, B.E.: Luteinizing hormone, oestrogen and progesterone levels in peripheral serum of anoestrous and cyclic ewes as determined by radioimmunoassay. J. Reprod. Fert., 43: 57-65 (1975).
32. Zarco, L., Stabenfeldt, G.H., Kindahl, H., Quirke, J.F. and Granström, E.: Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. In: Prostaglandins in Animal Reproduction II. Edited by Edqvist, L.E. and Kindahl, H. 245-267. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1984.