

03067
5

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



Colegio de Ciencias y Humanidades
Unidad Académica de los Ciclos
Profesionales y Posgrado

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
Especialización, Maestría y Doctorado en Ciencias del Mar

**EFFECTOS DE LOS NUCLEOTIDOS CICLICOS (dbAMPc
y dbGMPc) EN LA OVULACION DE LA CARPA DO-
RADA, CARASSIUS AURATUS (Muler tt, 1883)**

T E S I S

Que para obtener el Grado de
Maestro en Ciencias del Mar
(Especialidad Oceanografía, Biología y Pesquera)

P r e s e n t a

JAIRO RAFAEL ROSADO VEGA

2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

DEDICATORIA

Con verdadero cariño a mis padres:

LUCILA Y CLEMENTE

Con todo mi amor a mis hijos:

LUCILA MARIANA

CLEMENTE MANUEL

XI. A G R A D E C I M I E N T O S

A la Secretaría de Relaciones Exteriores y a la Embajada de Colombia por su apoyo económico que hizo posible la realización de mis estudios.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología por los conocimientos impartidos a través de sus docentes.

A la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, y en especial al biólogo Armando Ferreira por su orientación y colaboración en la realización de la tesis.

Al Dr. Carlos Beyer, Jefe de la sección de Neurociencia en el Centro Médico, por su idea original acerca de la participación de los nucleótidos cíclicos en la ovulación de la carpa dorada.

Al M. en C. Francisco Vera Herrera, Director de la Tesis, por su asesoría y orientación del trabajo, así como por ser la persona que más influyó, para que en mí, naciera la vocación por esta rama de la piscicultura.

Al M. en C. Manuel Guzmán, por la revisión de la tesis, conocimientos impartidos, y por la confianza brindada a través de mi estadía en el Instituto.

Al Dr. Gerardo Green por su gran ayuda e interés decodificado en bien de los estudiantes extranjeros.

Al M. en C. José Luis Arredondo y a la Dra. Guadalupe De La Lanza, por la revisión de la tesis, confianza y amistad brindada, así como por los conocimientos impartidos.

A la señorita María Elena Estrella, secretaria de la Coordinación Académica, por todos los servicios prestados.

A todos los compañeros de la Maestría y del Instituto que hicieron muy grata mi estadía en México.

G L O S A R I O

A C T H .	Hormona adrenocorticotrópica.
A M P.	Adenosín Monofosfato
CLOMIFENO.	1- p-(B-dimetil amino etoxi) fenil - 1, 2-difenil- 2- cloroetileno. Antiestrógeno
dbAMP.	Dibutiril adenosín monofosfato cíclico
dbGMP.	Dibutiril guanidosín monofosfato cíclico
D O C A.	Acetato de desoxicorticosterona
F S H.	Hormona estimulante del folículo
F.C.	Factor de Condición
F.L.Gn o GnRH.	Hormona o factor liberador de gonadotropi- nas
G C H.	Gonadotropina coriónica humana
I. G.	Índice gonadosomático
I. O.	Índice ovulatorio
I. C.	Intracraneal
I. P.	Intraperitoneal
Lst.	Longitud estandar del pez
L H.	Hormona luteinizante
L H - R H.	Hormona liberadora de LH
MS-222.	Metanosulfato de tricafna. Anestésico
P.A.O.	Porcentaje acumulativo de ovulación
P. G.	Peso Gonadal
PGs.	Prostaglandinas. Hormonas
T A M O X I F E N.	1- p- (B- dimetil amino etoxi) fenil - 1,2 transdifenil but-1-eno. Antiestrogé- nico

C O N T E N I D O

AGRADECIMIENTOS

GLOSARIO

RESUMEN

I. INTRODUCCION

II. OBJETIVOS

III. ANTECEDENTES

1. EXTRACTO PITUITARIO DE PECES

2. GONADOTROPINAS

3. CORTICOESTEROIDES Y PROGESTOGENOS

4. PROSTAGLANDINAS

5. ANTIESTROGENICOS: CLOMIFENO Y TAMOXIFEN

6. HORMONAS LIBERADORAS DE GONADOTROPINAS Y
ANALOGOS SUPERACTIVOS

7. NUCLEOTIDOS CICLICOS

IV. MATERIALES Y METODOS

1. ANIMALES

2. ACONDICIONAMIENTO

3. CONDICIONES EXPERIMENTALES

4. TRATAMIENTO

5. PRUEBAS ESTADISTICAS

a. Prueba -t- de Student

b. Correlación y coeficiente de correlación

V. RESULTADOS, TABLAS Y FIGURAS

VI. DISCUSION

VII. CONCLUSIONES

VIII. BIBLIOGRAFIAS

R E S U M E N

Un gran número de especies de teleósteos de importancia en la piscicultura, presentan trastornos reproductivos al ser mantenidas en cautiverio, lo que implica una disminución en el número de alevines y peces para el consumo.

La presente contribución tiene como objetivo fundamental demostrar, si los derivados de nucleótidos cíclicos (dbAMP y dbGMP), ejercen un efecto positivo en la ovulación de la carpa dorada, Carassius auratus, para que en un futuro pueda proyectarse su aplicación a otras especies de mayor importancia como fuentes de proteína animal. Su bajo costo, fácil almacenamiento y el hecho de utilizarse en dosis mínima le dan ventajas ante otros agentes inductores.

Se utilizaron carpas doradas, Carassius auratus, capturadas en algunos lagos del Estado de Hidalgo. Los peces presentaron un Lst promedio de 9.36 ± 0.78 cm y un P.C promedio de 32.8 ± 8.6 g. Después de dos semanas de adaptación, las hembras fueron sometidas a un fotoperíodo de 16 hs. luz/8hs. oscuridad y a una temperatura de 13 ± 1 °C.

Se formaron seis grupos:

El grupo I con 7 peces (Testigo), no se le aplicó ningún tratamiento.

El grupo II con 9 peces (Control), se le inyectó solución salina intracraneal.

En este grupo, al igual que en el I, no ocurrieron ovulaciones y se observaron en los peces pérdidas de peso corporal.

El grupo III con 8 peces, se le administró 0.3 ug/g de peso de dbAMPc intracraneal. Los peces ovularon significativamente con respecto a su control (p .001). De ocho hembras, seis alcanzaron la ovulación, lo que representó un P.A.O de 75 %. Mediante este tratamiento se obtuvo un I.O de 29.7 %.

El grupo IV, formado por 11 peces, se le aplicó una dosis de 2.8 ug/g de peso de dbGMP. La administración de este compuesto produjo ovulaciones en diez de once hembras, obteniéndose un P.A.O de 90.9 % y un I.O de 34.8 %, por lo que se deduce que, este derivado es más activo que el dbAMPc.

El grupo V con 6 peces, se le inyectó solución salina intraperitoneal 0.7 % y ninguna de las hembras alcanzaron la ovulación. Su I.) fue apenas de 3.8 %.

El grupo VI, formado por 6 peces se le administró dbAMPc intraperitoneal en dosis de 2.8 ug/g de peso. No se observaron ovulaciones en ninguna de las hembras tratadas y el I.O fue de 6.8 %. Estos resultados demuestran que los derivados de nucleótidos cíclicos actúan a través del sistema hipotálamo hipófisis y no vía gonadal.

De las 16 hembras que ovularon en el transcurso del experimento, 10 de ellas alcanzaron la ovulación a las 48 hs,

ésto, está en concordancia con el lapso de tiempo a la cual obran los agentes de gran efectividad, tales como el LH-RH

I. INTRODUCCION

En la actualidad, la producción comercial ó industrial de peces a través de las diferentes piscifactorías existentes en determinadas áreas del país, depende del aporte de los criaderos existentes en ellas y de la explotación que pueda hacerse de las aguas epicontinentales y marinas.

La Acuicultura en el sentido productivo es absolutamente dependiente del adecuado aporte de alevines, huevos fértiles y peces juveniles. Para asegurar el aporte de alevines y reproductores se han desarrollado técnicas para inducir la ovulación y el desove (Chauduri, 1976; Yamasaki, 1965). Si estas técnicas son suficientemente controladas y desarrolladas, se convierten en herramientas útiles en la producción de huevos fértiles y progenies capaces de sobrevivir y desarrollarse como lo hacen en sus medios naturales. Desafortunadamente, muchas especies que se reproducen en grandes proporciones en sus medios naturales no lo hacen fácilmente en cautiverio, donde se pueden obtener resultados sobresalientes desde el punto de vista de la explotación (comercial ó industrial).

Las hembras grávidas no liberan sus huevos en cautiverio y es lógico suponer que toda empresa piscícola debe contar con una suficiente provisión de huevos, alevines y juveniles que en pocos meses se traducen en fuente de proteína

animal a bajo costo y de fácil acceso para los habitantes de la región.

México no escapa a este problema. Los piscicultores de los diferentes Estados, como también las piscifactorías bajo el control gubernamental, afrontan la difícil situación de poseer adecuados reproductores importados, pero que en el país no han podido reproducir, induciéndolos a utilizar extractos hipofisiarios que en especies de difícil desove no tienen ningún éxito, tal es el caso de la carpa negra, -- Mylopharyngodon piceus. David y Chouinard (1980), señalan que en todo el mundo más de 300 especies diferentes de teleosteos han sido cultivados. A pesar de esto, son pocas las especies que se reproducen en confinamiento; algunas presentan trastornos reproductivos, entre ellos falta de ovulación y desove. Muchas especies están siendo inducidas a desovar a través de la técnica de inyección de hormonas gonadotrópicas (Yamasaki, 1965; Kuo, 1974; Goetz y Bergman, 1978; Lam, 1982), reportado hace más de 40 años. Además de lo mencionado anteriormente, hay que resaltar la alta mortandad de alevines en aquellas especies con desove natural. En otras especies que sí se reproducen, no se puede precisar la fecha de desove individual y consecuente con esto, se presenta una gran mortandad de pececillos, lo que implica una disminución en la población que se va a producir anualmente.

El perfeccionamiento y la mayor adaptación de la repro-

ducción inducida, tanto en especies nativas como en exóticas deseables, junto con mejores sistemas de manejo en la industria, podrían ayudar a desarrollar el potencial de muchas especies tropicales, mediante su introducción o siembra en los ríos, lagos, lagunas, jagueyes, etc., medios en los cuales las especies alcanzan un desarrollo adecuado por representar sus ambientes naturales.

De acuerdo a lo anterior existen tres soluciones:

- 1.- Capturar los alevines de fuentes naturales y luego trasladarlos a los criaderos para que crezcan. A pesar de que con este método se disminuye bastante las muertes por depredación, esto en sí, implica muchas dificultades: tiempo en la captura, utilización de personal con experiencia y habilidad, además, la principal desventaja estriba en que se basa por completo en la productividad del habitat de desove natural.
- 2.- Aprender a inducir la reproducción de los peces en cautiverio. Esta ha recibido la atención en los últimos años y se han obtenido resultados muy satisfactorios. Es pertinente añadir, que aquellos factores ambientales que juegan papel importante en la reproducción, son más fácil de manejar en este método que en el anterior, por lo que se asegura un mayor éxito en la reproducción de los peces (Harvey y Hoar, 1980).

3.- Reproducirlos naturalmente en estanques bajo condiciones controladas. Existen especies de carpas (común y barrigona), que desovan sin necesidad de aplicarle tratamiento hormonal, incluso basta la presencia del macho y algunas plantas para que ellas se produzca el desove. Igual sucede con otros peces de fácil desove, tales como el bagre y la tilapia etc.

Se han diseñado diferentes técnicas para solucionar el problema de los trastornos reproductivos e inducir artificialmente la ovulación y el desove.

Entre estos métodos se encuentran los siguientes:

- 1.- La administración de hormonas esteroidales que indirectamente estimulan el eje hipotálamo - hipófisis (Richter y Van den Hurk, 1982).
- 2.- La aplicación de extractos pituitarios homo y heteroplásticos (Rothbard, 1981; Epler et al., 1982).
- 3.- La aplicación de gonadotropinas homólogas más o menos purificadas (Hunter et al., 1978).
- 4.- La administración de hormonas hipotalámicas o de sus análogos más activos, tal como el LH-RH. Dicho análogo estimula la producción de gonadotropinas e induce la descarga de LH y FSH (Donaldson et al., 1982; Lam et al., 1975).
- 5.- Sustancias "extrabiológicas como los antiestrogénicos;

Citrato de Clomifeno y Tamoxifen (Donaldson y Hunter, 1982).

Todas estas técnicas en general no dan resultados en todos los peces tratados y algunos de los agentes inductores tienen un costo relativamente elevado y son de difícil consecución en nuestro medio (tal es el caso del LH-RH), por lo que se dificulta más su aplicación en la reproducción de los peces. Por consiguiente es de primordial importancia iniciar investigaciones sobre posibles "agentes inductores de la ovulación y el desove", así como de sustancias que a pesar de tener un efecto indirecto en la ovulación (teofilina y aminofilina), contribuyen a que la dosis del extracto inductor sea menor, amortiguando los altos costos de los productos químicos.

Es de interés considerar que la percepción de estímulos ambientales como la duración del día (fotoperíodo), la temperatura y la pluviosidad, está regida por el sistema nervioso y cualquier variación brusca que experimenten, incide en la maduración gonadal y en el desove. En China se ha demostrado que un aumento en la temperatura y el nivel del agua donde se encuentran los reproductores, induce al desove de las carpas (David y Chouinard, 1980).

II. OBJETIVOS

De acuerdo y según el análisis de la evolución histórica de la reproducción inducida en las diferentes especies de peces teleósteos, y comprendida su importancia dentro del papel que juega en la piscicultura, es importante continuar investigando en dicha área, en donde el objetivo principal es la búsqueda de un compuesto químico ó "agente inductor de la ovulación", que sea de gran aplicación en el desove de aquellas especies que no lo hacen o lo hacen deficientemente en cautiverio, y que son de gran importancia como fuente de proteína animal.

En concordancia con lo que se ha planteado anteriormente, este trabajo persigue los siguientes objetivos:

1. Demostrar el efecto in vivo que tienen los derivados de nucleótidos cíclicos (dbAMP y dbGMP) sobre el mecanismo de ovulación de la carpa dorada, Carassius auratus.
2. Localizar la ruta ideal de administración a la que actúan los nucleótidos cíclicos a una dosis de 0.3 y 2.8 ug/g de peso, consideradas óptimas por otros autores en experimentos de inducción de comportamiento en ratas.
3. Analizar en base a los resultados de la ovulación, si ellos por su bajo costo y formas de aplicación, pueden ser los posibles reemplazos de otros "agentes inductores de la ovulación y del desove", utilizados a través

de la historia de la reproducción inducida, y que actualmente son de difícil consecución y de precios elevados.

4. Observar si existe correlación entre la aplicación de los derivados de nucleótidos cíclicos y el índice gonadosomático.
5. Establecer una correlación entre el peso del ovario y el tamaño corporal, así como entre el peso de los óvulos expulsados y el peso corporal.
6. Demostrar si los derivados de nucleótidos cíclicos (dbAMP y dbGMP), poseen efectos iguales o antagonistas en la ovulación de la carpa dorada, Carassius auratus.

III. ANTECEDENTES

Se considera importante realizar un estudio de la evolución que ha sufrido la reproducción a través de los años, antes de establecer los antecedentes sobre los nucleótidos cíclicos.

1. EXTRACTOS PITUITARIOS DE PECES

La técnica de inyectar extractos pituitarios de un donador a un receptor ha existido desde hace muchos años (ensayos preliminares fueron llevados a cabo por Houssay en 1983), y ha experimentado un notable refinamiento a través de los años. Aún es ampliamente practicado, particularmente en las carpas mayores de la India, carpas de la China, etc., y sigue siendo la única alternativa realista para el cultivo rural de los peces, tanto por razones económicas como técnicas.

Los inconvenientes de la técnica pueden agruparse como problemas de dosificación y aprovisionamiento. Además hay que tener en cuenta la edad, sexo y estado de madurez del donante, así como el método de extracción y técnica utilizada para preservar la glándula (Jalabert et al., 1977; Rothbard, 1980). Su actividad específica está en entredicho, puesto que el extracto posee varias hormonas que no están relacionadas con la reproducción y que pueden alterar la fisiología del pez (Lam, 1982).

Se han hecho innovaciones a la técnica de hipofisación y la información sobre el método de recolección, preparación y almacenamiento de hipófisis se encuentran descritas en Rothbard (1980), Woynarovich y Hovarth (1980), Chauduri - (1976) y Yamasaki (1976).

2. GONADOTROPINAS

En las últimas décadas, varios han sido los intentos para aislar y purificar gonadotropinas de teleósteos a partir de hipófisis, obteniéndose resultados favorables en carpa común, salmón "chinook" y tilapias. Existen evidencias de la secreción por parte de los peces de dos clases de gonadotropinas: una con acción ovulatoria y con alto contenido de glucoproteínas (Donaldson, 1973) y otra con bajo contenido de ellas, que se piensa controla la vitelogénesis (Idler et al., 1975)

Los experimentos realizados en salmónidos y en ciprínidos han permitido concluir que el proceso de maduración de las gónadas es resultado indirecto de un aumento lento y constante de gonadotropinas y que la ovulación y formación de espermatozoides están precedidos por un aumento más prominente de ellas (Harvey y Hoar, 1980). Al salmón del "pacífico" se le ha inducido la ovulación a través de gonadotropinas de salmón, método simple y de bajo costo, que ha permitido un aumento en el número de huevos colectados y se ha prevenido la pérdida por mortandad (Hunter et al., 1978). Efectos positivos se han obtenido en bagres hipofisectomizados, donde las

gonadotropinas de salmón parcialmente purificadas han inducido la ovulación, vitelogenésis y oogénesis en ovarios en proceso de regresión (Sundararaj et al., 1972). Igual de importante es el estudio llevado a cabo por Hirose et al., (1974) en Plecoglossus altivelis, en el que se demuestra el efecto que poseen las gonadotropinas en el balance de agua y por lo tanto en la hidratación ovárica y en la ovulación.

Entre las diversas gonadotropinas, la del salmón ha sido la que ha tenido mayor respuesta en la inducción de la ovulación in vitro de Oryzias latipes o Medaka japonesa (Hirose, 1976). Esta gonadotropina demostró tener una potencia mayor que la de mamíferos, sugiriéndose por esta razón una especificidad zoológica.

Es de gran importancia resaltar el hecho de que, las gonadotropinas purificadas, tienen una gran aplicación por actuar sinérgicamente en otros compuestos para inducir ovulación y desove en mayor proporción, que cuando se utiliza el compuesto solo (Donaldson et al., 1982).

Las gonadotropinas de mamíferos son de mucha aplicación en la reproducción inducida y su costo es menor que el de las gonadotropinas purificadas. La gonadotropina coriónica humana es utilizada en piscicultura, aunque su efecto es menos preponderante que las de peces, hecho lógico, debido a las grandes distancias filogenéticas (Fontaine, 1976), y a que el uso excesivo puede producir efectos inmunológicos -

(David y Chouinard, 1980). Su gran similitud con la LH, ha permitido a muchos investigadores utilizarla como agente inductor de la ovulación, pero en algunas especies (carpas de la India) no induce desove cuando se aplica sola, pero si tiene efecto cuando es inyectada con pequeñas dosis de extracto pituitario de carpa (Chauduri, 1976); en especies como las lisas, altas dosis son requeridas. Grandes éxitos han sido obtenidos en pargo rojo, Lutjanus campechanus (Minton et al., 1983), lenguado, Plecoglossus altivelis (Hirose et al., 1976), lisa, Mugil cephalus (Kuo et al., 1973), carpa dorada, Carassius auratus (Yamasaki, 1965), y Mylopharyngodon piceus o carpa negra (Anónimo, 1977).

3. CORTICOESTEROIDES Y PROGESTOGENOS

Existe una gran evidencia de que los corticoesteroides y/o progestógenos intervienen en la maduración del oocito a través de la acción de las gonadotropinas.

La revisión de la literatura indica que son utilizadas para inducir maduración del oocito como también su hidratación (Lam, 1982). La gonadotropina, sea endógena o exógena, se considera estimulante de la biosíntesis del esteroide 17 α -20B progesterona, en la envoltura folicular; dicho esteroide induce luego a la maduración final de los óvulos. En el bagre se demostró que el 21 desoxicortisol y la DOCA,

fueron casi igualmente efectivos en inducir el rompimiento de la vesícula germinal y que el 17 α y 17 β estradiol, son totalmente inefectivos en inducir la maduración del oocito in vitro (Goswami y Sundararaj, 1974).

En truchas y perca amarilla, a pesar de su distancia filogenética, la progesterona, 17 α - hidroxiprogestero-30 β -D progesterona (Goetz y Bergman, 1978). Jalabert (1976), encontró que la 17 - 20 β - D progesterona era el más activo inductor de la maduración in vitro de oocitos de carpa dorada, trucha arco iris y en lucio. A pesar de que Lam - (1978), fracasó en inducir la ovulación en carpa dorada con este compuesto, Jalabert et al., (1977), tuvieron éxito en Cyprinus carpio, al complementarla con una dosis inicial de extracto hipofisiario. Sundararaj y Goswami (1971), observaron que en el bagre la DOCA tiene una actividad 5 veces mayor que la desoxicortisona en inducir la maduración del oocito, pero ambas actúan sinérgicamente para inducir la maduración y la ovulación.

4. PROSTAGLANDINAS

Las prostaglandinas (PGs) han sido identificadas en gónadas, semen, fluido ovárico, sangre y en incubaciones ováricas en una gran variedad de teleósteos. En estos, las PGs parecen estar involucradas en la contracción y ruptura folicular, ovulación, comportamiento de desove y liberación de gonadotropinas (Stacey y Pandey, 1975; Jalabert, 1976;

Stacey y Peter, 1979; Peter y Billard, 1976).

Los extractos pituitarios y la gonadotropina coriónica humana, son agentes que se utilizan para complementar la acción de las PGs. Ejemplo de esta complementación, lo constituye la inducción de la ovulación in vitro de la carpa dorada, cuando fue estimulada inicialmente con GCH (Stacey y Pandey (1975).

Las PGs del tipo E_2 (PGE_2), E_1 (PGE_1) y $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), ejercen un efecto positivo sobre la ovulación in vitro del Carassius auratus (Goetz, 1983), mientras que estudios similares realizados por el mismo autor en 1982 en truchas (Salvelinus fontinalis), mostraron que la $PGF_{2\alpha}$ estimula la ovulación y la PGE_1 la inhibe.

Las PGs no solamente actúan a nivel del ovario, sino que pueden ejercer sus efectos a nivel del eje hipotálamo-hipófisis, mecanismo comprobado en peces (Goetz, 1983).

5. ANTIESTROGENICOS: CLOMIFENO Y TAMOXIFEN

Worthington y Macfarlane (1983), proponen que, ante las desventajas que presentan las gonadotropinas de peces, como son: reducción de su actividad cuando es administrada de una especie a otra diferente, dificultad de seleccionar la dosis de hormona apropiada, además hay que añadir que los extractos pituitarios contienen muchas otras hormonas y son

muy caros, por lo tanto, es imperativo el uso de sustitutos que sean baratos y de fácil obtención, y que su eficacia sea más consistente entre las diferentes clases de teleosteos.

Ejemplos de tales drogas, son los compuestos clomifeno y tamoxifen. El clomifeno presenta una amplia actividad biológica. En ratas es estrogénico a dosis altas y antiestrogénico a bajas. Su principal papel es en la ovulación, ya que se ha demostrado que la induce en mujeres con ciclos anovulatorios (Greenblatt et al., 1961); también, se ha utilizado en la prevención del cáncer mamario (Ward, 1973). Demostrada su acción sobre el eje hipotálamo-hipófisis y como consecuencia en la liberación de gonadotropinas (Roy et al., 1963), algunos investigadores lo han utilizado para inducir la ovulación en peces, aprovechando que estos compuestos producen efectos similares a las gonadotropinas de mamíferos (Jacobson et al., 1968).

El tamoxifen a dosis de 1mg/Kg de peso induce ovulación y desove en Rutilus rutilus (Worthington y Macfarlane, 1983); resultados similares fueron obtenidos utilizando Clomifeno en carpa dorada en dosis de 1-10 µg/g (Pandey y Hoar, 1975; et al 1973 y 1974). Grandes descargas de gonadotropinas han sido inducidas en la carpa común (Cyprinus carpio) mediante Clomifeno, dicha descarga ha sido comparada con aquella en Carassius auratus, y que podría inducir ovulación y

espermiación en animales en un estado óptimo de madurez (Breton et al., 1975). Otra variante en el uso del tamoxifen fué llevado a cabo por Donaldson et al. (1982), al inducir la ovulación en salmón "Coho" inyectando inicialmente una pequeña dosis de gonadotropina de salmón.

Los resultados de este estudio, indican que el tamoxifen actúa en mamíferos y otros organismos superiores, presentando propiedades opuestas en base a las dosis (Donaldson et al., 1982).

6. HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINAS Y ANALOGOS SUPERACTIVOS

La hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-RH), un decapeptido sintetizado hace pocos años en varios laboratorios basados en la estructura del LH-RH en porcinos y ovinos, ha mostrado ser altamente efectiva en estimular la liberación de FSH y LH e inducir la ovulación en varias especies de mamíferos (Schally et al., 1971; Arimura et al., 1971).

El alto costo de esta hormona, hizo que los investigadores se orientaran hacia la búsqueda de análogos superactivos que fueran menos costosos y de gran aplicación en el campo de la ciencia. Es así como se sintetizaron algunos análogos, entre ellos el LH-RH D-Ala⁶-des-Gly NH₂10 etilamida, que ha mostrado tener una actividad biológica mucho mayor

que el LH-RH (Donaldson, 1981). Dichos agentes han sido efectivos en inducir el desarrollo y maduración del oocito y la ovulación en una gran cantidad de especies de importancia en piscicultura, tales como: carpa negra, cabezona, espejo, hervibora, común, trucha arco iris, marrón, etc. Las investigaciones al respecto son comparativamente recientes; sin embargo, el campo posee un futuro promisorio y cualquier avance traería muchos beneficios al piscicultor.

Los estudios hechos sobre el posible efecto del LH-RH en salmón, demuestran que la aplicación de este compuesto solo o en combinación con extracto hipofisiario y esteroides, acelera la maduración y ovulación en especies de agua dulce, pero su efectividad se reduce en los de agua salada (Sower et al., 1982). Las inyecciones intracraneales e intraperitoneales de LH-RH por tres días y a una temperatura de $12 \pm 1^\circ\text{C}$ (Lam et al., 1975), indujeron ovulación y desove en carpa dorada. Inyecciones intracerebrales también han mostrado tener efecto (Crim et al., 1976), aunque su efectividad para inducir ovulación parece variar estacionalmente (Peter, 1978).

7. NUCLEOTIDOS CICLICOS

La historia de la investigación del AMPc comienza en 1957, cuando Sutherland y Rall (1957), lo aislaron en homogenizado hepático. El GMPc fue descubierto en orina de ratas por Price et al. (1963).

Desde este mismo momento, el esfuerzo de los científicos se centró en investigar la posible participación de los nucleótidos cíclicos y sus derivados en numerosos procesos metabólicos, es así como fue observada su acción en varios eventos reproductivos, tales como:

1. Estimula la liberación de las seis principales hormonas de la adenohipófisis (Labrie et al., 1975) e induce a la formación y liberación de esteroides (Fain y Butcher, 1977; Marsh, 1976).
2. Moviliza los espermatozoides, participando en la fertilización y embriogénesis, maduración del huevo y luteinización (Menon y Gunaga, 1974; Sanborn et al., 1980).
3. Mantenimiento del útero y contractibilidad del oviducto (Maia y Coutinho, 1974; Singhal y Sutherland, 1975).
4. Interviene en los patrones de comportamiento sexual en ratas (Beyer et al., 1980, 1981 1982)
5. Interactúa con los receptores de GnRH (Factor liberador de gonadotropinas) en hipófisis y ovarios -- (Smith et al., 1982), e induce la formación de receptores de LH en las células de la granulosa (Sanders y Midgley, 1983).

Respecto a la síntesis y liberación de las hormonas gonadotrópicas, existen algunas evidencias que apoyan la teoría de que los nucleótidos cíclicos y algunos de sus derivados (dbAMPc y dbGMPc), están involucrados en estos fenómenos, actuando como mediadores de las gonadotropinas. Por ejemplo la administración de LH-RH provoca un aumento en los niveles endógenos de AMP y GMP cíclicos en cultivos de hipófisis de rata in vitro (Naor et al., 1978; Rigler et al., 1978). Así mismo se ha podido estimular la secreción de las gonadotropinas mediante la administración de dbAMPc y dbGMPc (Nakano et al., 1978), con lo que se ha demostrado que su administración reproduce e incluso refuerzan la acción del LH-RH.

El AMPc exógeno semeja el efecto de la ACTH en la esteroidogénesis. Esto sirvió de base para que algunos investigadores se avocaran a estudiar el papel del AMPc en la estimulación gonadotrófica de la esteroidogénesis, señalándose que el AMPc controla la formación de hormonas esteroidales y estimula la síntesis de progesterona (Marsh, 1975 y 1976). El dbAMPc es muy efectivo en inducir "respuesta de comportamiento sexual" en roedores tratados previamente con estrógenos (Beyer et al., 1980 y 1981).

En los peces teleósteos, la ovulación ha sido inducida por un incremento en los niveles de gonadotropinas. En forma idéntica a como sucede en los mamíferos, en los peces teleósteos, la secreción de gonadotropina son controladas por hor-

monas hipotalámicas y emplean el AMPc como mediador de su acción (Peter, 1978).

Por otra parte se ha observado que los nucleótidos cíclicos también participan a nivel gónadal como mediadores intracelulares del estímulo gonadotrófico (Schulz et al., 1981) y se ha podido reproducir la acción de las gonadotropinas de la carpa común (*Cyprinus carpio* L), sobre la producción in vitro de andrógenos, mediante la administración de dbAMPc (Chang y Huang, 1982).

Las gonadotropinas estimulan la actividad del sistema adenil y guanil ciclase en el ovario de la carpa dorada (Peter, 1978) e incrementan los niveles de AMPc en fracciones de tejido ovárico de anguila (Fontaine-Bertrand, 1977). Sin embargo, en oocitos de trucha, en los que se ha llevado a cabo in vivo, el rompimiento de la vesícula germinal y la separación folicular, el dbAMPc y algunos inhibidores de fosfodiesterasa (+eofilina y 3 isobutil- metilxantina) han mostrado ser potentes inhibidores de la ovulación (Goetz, 1982 y 1983); así mismo, se han obtenido resultados negativos en la inducción del reflejo de desove en Fundulus heteroclitus con AMP y GMP cíclicos (Pickford et al., 1980).

IV. MATERIALES Y METODOS

1. ANIMALES

Se utilizaron hembras de la carpa dorada, Carassius auratus, proveniente del Estado de Hidalgo, durante el período comprendido de mayo a julio de 1983, correspondiente a la época de reproducción. Se seleccionaron aquellas que presentaran un estado fisiológico semejante, el abdomen distendido y suave al tacto, y que al oprimirle levemente el vientre expulsaran algunos óvulos maduros, criterios usados por muchos investigadores para definir la madurez gonadal de una hembra. (Yamasaki, 1965; Lam, 1975).

Para su transporte al laboratorio, los peces fueron colocados en bolsas de polietileno conteniendo un volumen adecuado de agua. La longitud estandar promedio (Lst) de los animales fué de 9.36 ± 0.78 cm y su peso corporal promedio (P.C) de 32.8 ± 8.6 g

2. ACONDICIONAMIENTO

Las carpas fueron instaladas en un cuarto con temperatura regulable dentro de acuarios de 100 litros que contenían agua reposada y desclorinada, a la misma temperatura del agua de donde provenían los peces (20 ± 1), con un filtro mecánico construido con una placa de acrílico perforada, sostenida a 2.5 cm de altura de la base del acuario y cubierta con una capa de arena de río de

5cm de espesor con una piedra aeradora colocada en su interior.

Durante la primera semana los peces fueron adaptados a las condiciones prevalecientes en los acuarios y en la semana siguiente la temperatura se fué disminuyendo paulatinamente hasta que se alcanzara los $13+3$ °C; el fotoperíodo se mantuvo en 16 hs luz/8 hs. oscuridad, encendiéndose la luz a las 9.00 am. Diariamente y a la misma hora (11 am), se les alimentó con hojuelas para peces.

3. CONDICIONES EXPERIMENTALES

Después del período de acondicionamiento, las hembras fueron marcadas en los radios de la aleta dorsal, siguiendo un patrón numérico en el cuál la marca en el primer radio correspondió a la hembra número uno y así sucesivamente.

Una vez numeradas, las hembras fueron pesadas y medidas en su longitud estandar (Lst), con lo que se calculó su factor de condición (F.C), eliminando aquellas carpas que tuvieran un valor menor de 3.5.

Se formaron seis grupos de peces hembras con representantes de los diferentes tamaños con el propósito de que tuvieran en promedio dimensiones semejantes (Tabla I). La selección se hizo al azar y de la siguiente

manera; una vez que los peces completaron el período de adaptación, fueron nuevamente pesados y medidos; posteriormente se colocaron en un acuario de aproximadamente 200 litros y se procedió a extraer especímenes de pesos y longitudes semejantes, colocándolos en acuarios diferentes hasta completar los seis grupos (I, II, III, IV, V, VI). A estos grupos se les asignaron al azar números que coincidían con los tratamientos que se iban a aplicar.

Previendo muertes por la inyección intracraneal y por el ataque de los hongos, a los grupos II, III y IV se les asignó un número mayor de hembras. Favorablemente, no ocurrieron bajas durante el experimento.

Cada grupo fué instalado en acuarios de 60 litros conteniendo agua reposada y desclorinada, así como un filtro mecánico. Dentro de estos acuarios de ovulación, las hembras permanecieron sujetas a las mismas condiciones de fotoperíodo, temperatura y alimentación descrita previamente, por lo menos una semana antes de iniciar el experimento.

4. TRATAMIENTO

A los grupos seleccionados al azar se les aplicó el tratamiento siguiente: Tabla I.

GRUPO 1: Testigo

Formado por 7 peces a los cuales no se les hizo ningún tratamiento.

GRUPO 2: Control

Con 9 peces, a los cuales se les aplicó una inyección intracraneal de cloruro de sodio al 0.7 % y el volumen inyectado fue de 25 μ l/pez.

GRUPO 3: Experimental

Con 8 peces a los cuales se les administró una inyección intracraneal de dbAMPc en dosis de 0.3 μ g/g de peso y el volumen inyectado fue de 25 μ l/pez

GRUPO 4: Experimental

Con 11 peces, cuya inyección de dbGMPc intracraneal fue aplicada en dosis de 0.3 μ g/g de peso y el volumen inyectado fue de 25 μ l/pez.

GRUPO 5: Control

Con 6 peces a los cuales se les aplicó una inyección intraperitoneal de cloruro de sodio al 0.7% y el volumen aplicado fue de 10 μ l/g de peso.

GRUPO 6: Experimental

Con 6 peces. Una inyección intraperitoneal de dbAMPc fue aplicada en dosis de 2.8 μ g/g de peso y el volumen inyectado fue de 10 μ l/g de peso.

Los animales de los grupos tratados por vía intracraneal, fueron primeramente anestesiados con 100mg de MS-222 en 1 litro de agua (Mc Farland y Klontz, 1969). La inyección intracraneal fue hecha a través del techo del cráneo, en la región

TABLA I

TRATAMIENTO APLICADO A LA CARPA DÓRADA (CARASSIUS AURATUS)

MAYO - AGOSTO, 1983

GRUPO	N. PECES	TRATAMIENTO	DOSES	VOLUMEN	ROUTA	PERIODO DE REVISIÓN DE LA OVULACION (hrs)
I	7	---	---	---	---	48-120
II	9	SOL. SALINA	0.7%	25µl/pez	I.C. ²	48-120
III	8	db AMP c ¹	0.3 µg/g	25µl/pez	I.C	48-120
IV	11	db GMP c ²	0.3 µg/g	25µl/pez	I.C	48-120
V	6	SOL. SALINA	0.7%	10µl/g	I.P. ⁴	48-120
VI	6	db AMPc	2.8 µg/g	10µl/g	I.P	48-120

27

1 dibutilil edenosin monofosfato ciclico

2 dibutilil guanh monofosfato ciclico

3 intracraneeal

4 intraperitoneal

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

mediodorsal, donde se unen los 2 huesos frontales con los parietales. Ahí se hizo una leve perforación con el fin de facilitar la penetración de una aguja número 26, adaptada a una jeringa de 1 ml.

Para evitar que la aguja lesionara el cerebro, se colocó un tope a 3mm de la punta y la penetración, a través del cráneo, fué hecha rotando la aguja hacia atrás y hacia adelante. Este tipo de movimiento permite cierto control en la penetración y asegura que la aguja penetre a la cavidad craneal sin lesionar el cerebro (Lam et al, 1975). Durante las inyecciones experimentales a través de este método no ocurrieron muertes.

Las sustancias que se emplearon experimentalmente fueron: N^6-0^2 Dibutiril adenosin-monofosfato cíclico (dbAMPC) y Dibutiril-guanidosin-monofosfato cíclico (dbGMPC); de la Sigma Chemical Co., St Louis, Mo., U.S.A., disueltas en una solución salina de cloruro de sodio al 0.7%. En vista de que no existían datos pertinentes sobre la dosis que se aplicaría, se tomó como referencia las dosis aplicadas en ratas para inducirles comportamiento sexual (Beyer, 1981).

Antes de aplicarle las drogas, a los peces se les oprimió el abdomen para que expulsasen los óvulos contenidos en el oviducto. La aplicación de las soluciones se llevó a cabo en un intervalo de 2 horas y la revisión de la ovulación se realizó a las 48- 72- 96 y 120 hs. después de haber inyec-

tado las sustancias y en el mismo intervalo de tiempo. La revisión de las hembras, consistió en oprimirle levemente el abdómen, de adelante hacia atrás, varias veces, recogiendo en un tubo de ensayo los óvulos expulsados, hasta que estos dejaran de salir (Harvey y Hoar, 1980). Los óvulos y los animales fueron pesados al concluir la ovulación o el último día de la revisión.

Posteriormente, se procedió a sacrificar a las hembras y a extraer sus ovarios, que luego fueron pesados con el objeto de calcular su Índice Gonadosomático (I.G). Este fue calculado a través de la relación: $\text{Peso corporal} \times 100 / \text{longitud estandar}^3$. Los animales cuyo I.G fue menor de 14 y no hubieran ovulado fueron eliminados de los grupos experimentales.

El Índice de Ovulación (I.O) se calculó mediante la siguiente relación: $\text{peso total de los óvulos} \times 100 / \text{peso total de la gónada}$, donde el peso total de la gónada fue determinada añadiéndole al peso de la gónada, el peso total de los óvulos expulsados. Sólo se consideraron como hembras ovuladas, aquellas con I.O igual o por encima de 20% (Peter, comunicación personal).

5. PRUEBAS ESTADISTICAS

a. Prueba -t- de Student:

Se aplica a muestras pequeñas, distribuidas más o me-

nos normalmente y con desviaciones típicas desconocidas. Se utiliza cuando se requiere comparar lo significativo de un experimento, es decir si el tratamiento que se dió al grupo experimental produjo algún efecto en relación al control.

Consta de los siguientes pasos:

1. Se calculan las medidas, X_1 y X_2 del grupo experimental y del control.
2. Se calcula la desviación cuadrática media de la muestra:

$$s^2 = \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \left\{ \sum (x - \bar{x}_1)^2 + \sum (x' - \bar{x}_2)^2 \right\}$$

3. Se calcula el parámetro t por la ecuación:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

4. Se deduce $v = N_1 + N_2 - 2$
5. Con el valor de v y t se busca en las tablas de distribución de Student y se encuentra la probabilidad de que el valor observado no exceda al t calculado.

Por lo general valores por debajo de 0.05, implican que las muestras son diferentes, es decir que el tratamiento produjo algún efecto; valores por encima, se toman como no significativos.

b. Correlación y Coeficiente de correlación

Quando se puede demostrar que la variación de una variable está de algún modo asociada con la variación de otra,

entonces se puede decir que las dos variables están correlacionadas.

Una correlación puede ser positiva (cuando, por ejemplo, tanto X como Y aumentan), o negativa (cuando, por ejemplo, al aumentar una variable la otra disminuye).

La correlación se expresa mediante un coeficiente (r) que puede tomar valores desde -1 hasta $+1$. Un coeficiente de 1 , sea de signo positivo o negativo indica una correlación perfecta entre dos variables. En cambio, un coeficiente de cero sugiere una falta de completa correlación.

V. R E S U L T A D O S

Los resultados obtenidos en el grupo al cual no se le aplicó ningún tratamiento (grupo testigo), son presentados en la Tabla 2.

La revisión de la ovulación para dicho grupo, se hizo en un lapso de 48 hs, observándose una disminución en peso corporal de todos los peces. No se registró ovulación en ninguna de las hembras. El pez 7, con un peso corporal inicial de 39.6 g y una longitud estandar de 10 cm, alcanzó a expulsar 0.977 g de óvulos, correspondiendo a ésta su mayor índice gonadosomático (20.1%), y un mayor peso gonadal (7.8 g). A pesar de que la hembra 2 presentó el mayor peso corporal (42.5 g) y longitud estandar (10.4 cm), la cantidad de óvulos expulsados (.016), es insignificante en relación al peso de su gónada (5.8 g). Para este grupo no existe una relación directa entre el Índice Gonadosomático -- (I.G.) y el Índice de Ovulación (I.O). La hembra 5, con un I.G de 14.4% alcanzó un mayor I.O (12.8%), mientras que la 7, con un I.G de 20.1% apenas obtuvo un I.O de 12.5%.

La Tabla 3 presenta los resultados obtenidos mediante la aplicación de solución salina intracraneal (Grupo Control).

Con excepción de la hembra 3, se observó una pérdida de peso corporal en los peces sometidos al tratamiento.

La hembra 4, con una longitud estandar (Lst) de 10.3 cm, mostró el mayor peso gonadal (P.G), pero esta, al igual que la 3, 5 y 6, alcanzaron un I.O igual a cero. La 9, con un Lst de 8.7 cm y el mayor factor de condición (4.6%), logró expulsar 0.780 g de óvulos con un I.O de 19.0%, que resultó ser el mayor. El pez 8, a pesar de haber alcanzado el mayor I.G (19.7%), apenas presentó un I.O de 4.8%.

La Tabla 4 muestra los resultados en los peces sometidos al tratamiento con 0.3 ug/g de peso de dbAMPc intracranial.

De 8 hembras tratadas, 6 alcanzaron la ovulación, siendo la hembra 8, la que mostró el mayor índice (67.1), mientras que en la 7, fue el menor (16.0). No se observa una relación entre el I.G y el I.O en las hembras tratadas, ya que en las t, con un I.G de 16.3%, tuvo un I.O de 34.8%, en tanto que la 7 con un I.G de 19.5%, mostró un I.O de 24.8%. El 8, con una Lst de 7.8 cm, expulsó la mayor cantidad de óvulos (2.484 g) y seis de ellos alcanzaron a sobrepasar los 1.20g, aunque se observó que en el pez 7, a pesar de haber expulsado 1.20g solo alcanzó un I.O de 16.0%. De las 6 hembras que ovularon, 4 lo realizaron 48 hs después de haber aplicado la droga y 2, 72 hs. después.

Aplicada la prueba -t- de Student, éste grupo resultó ser altamente significativo respecto al grupo control (p .001) .

La Tabla 5 presenta los resultados alcanzados en el grupo 4, al cuál se le aplicó 0.3 ug/g de peso de dbGMPc intracraneal. De 11 peces tratados, 10 lograron ovular. La prueba -t- de Student revela que este grupo es significativamente diferente del control ($p < 0.001$). En este grupo, también se observó una disminución del peso corporal en todas las hembras tratadas. Si se observan las expulsiones de los huevos de los diferentes peces, se nota que estas fueron mayores mediante éste tratamiento que con dbAMPc intracraneal, igual puede decirse para el I.O. Las hembras 5 y 7, expulsaron óvulos que sobrepasaron los 3.0 g y alcanzaron I.O por encima de 45%. El mayor I.O fue observado en la hembra 7 (57.5%) con un I.G de 19.9%, en tanto que el menor (19.9%) fue obtenido por la 4. Este último, con una Lst de 7.9 cm, tuvo el mayor I.G (27.3%). 5 peces ovularon en 48 hs; 4 en 96 y 1 en 72 hs.

La Tabla 6 presenta los resultados alcanzados mediante la aplicación intracraneal de solución salina 0.7%. Ninguno de los peces sometidos al tratamiento ovuló, ni aún hasta las 120 hs. La hembra 6, con una Lst de 10.5 cm alcanzó un I.O de 6.2%. Dos de ellas (2 y 2) no lograron expulsar óvulos, por lo que su I.O fue de cero. El pez 4 con un I.G de 20.6% mostró un I.O de 5.7%. Ninguno de los peces alcanzó a ovular 0.5 g; solamente la hembra 6 Ovuló 0.477 g. Igual que en los grupos anteriores, hubo una disminución de peso corporal.

La aplicación del dbGMPc intraperitoneal (Tabla 7), no

tuvo efecto en la ovulación, ya que de 6 peces tratados ninguno ovuló. La hembra 6, con una Lst de 10 cm e I.G de 20.5%, solo logró un I.O de 3.8%, mientras que la 4, con una longitud de 9.6 e I.G de 14.7% alcanzó un I.O de 10.3%. La mayor cantidad de óvulos expulsados lo presentó la hembra 5 - (0.558g), los otros peces ovularon cantidades mínimas. Aplicada la prueba -t- de Student, el grupo experimental no fue significativo en relación con su control ($p < 0.4284$). El lapso de revisión de la ovulación alcanzó hasta las 120 hs.

Un resumen de los resultados promedios, obtenidos a través del experimento se presentan en la Tabla 8 y en las figuras 1, 2, 3 y 4. En los diferentes grupos se observa una uniformidad en el peso corporal, longitud estandar y factor de condición.

El I.O calculado en los diferentes grupos, manifiesta que el tratado con dbAMPc intracraneal, es de 34.8% y el de dbGMPc es de 29.7%, mientras al que se le aplicó dbAMPc intraperitoneal el I.O es de 6.8% (Fig. 1). Se obtuvo un mayor porcentaje acumulativo de ovulación (P.A.O) mediante la aplicación de dbGMPc (90.9%) y dbAMPc intracraneal (75.0%). Los demás grupos (I, II, V y VI), presentaron un P.A.O. igual a cero (Fig. 2).

No se observó diferencias significativas en los I.G. de los grupos sometidos al tratamiento con los derivados cícli-

cos (III, IV y VI). El mayor I.G correspondió al grupo III, al que se le aplicó el dbAMPc intracraneal (19.2%) y el menor al grupo testigo (15.6%). (Fig.3).

De los resultados presentados en la Tabla 8, no se puede establecer una correlación positiva entre los diferentes tratamientos y su posible efecto gonadal, a pesar de que el grupo III, al que se le aplicó dbAMPc intracraneal alcanzó el mayor I.G (19.2%).

Existe una gran diferencia respecto al peso de los óvulos alcanzados por los grupos (III y VI) a los que les aplicó dbAMPc y dbGMPc intracraneal en relación a los demás grupos, testigo y controles (I, II, V y VI). El tratado con dbAMPc intracraneal ovuló una cantidad promedio de huevos que en peso correspondió a 1.9g, y el de dbGMPc, sus huevos lograron un peso promedio de 1.8g, lo cual es muy significativo en comparación con los demás, entre los cuales el grupo al cuál se le aplicó dbAMPc intraperitoneal (grupo VI), solo logró expulsar 0.37 g (Fig. 4).

El análisis de correlación del peso de los ovarios con respecto al peso corporal para los grupos tratados con dbAMPc intracraneal, así como el de dbAMPc intraperitoneal, es mostrado en la Fig. 5. Una correlación positiva entre el peso del ovario y el peso corporal se observa en los tres grupos, siendo mayor el coeficiente de relación en el grupo tratado

con dbAMPc intraperitoneal ($r=0.91$). También existe una correlación positiva entre el peso del ovario y el tamaño corporal, siendo menos significativo en el grupo al cuál se le aplicó dbGMPc intracraneal (Fig. 6).

TABLA 2
GRUPO AL QUE NO SE APLICO NINGUN TRATAMIENTO (testigo)
MAYO - AGOSTO, 1983

GRUPO	PEZ No	PC INICIO FINAL g	Lst CM	LONGITUD ESTANDAR COMDE.	FACTOR FC PC Lst	PESO OVULOS PO g	PESO SONADA PG g	INDICE SONADA PC	INDICE INY-OVUL. PC	LAPSO HORAS	INDICE OVULACION PO PG	OVUL.
1		348-317	9.8	3.7	0.409	4.6	14.5	120	8.90	-	-	-
2		425-410	10.4	3.8	0.016	5.8	14.2	120	0.28	-	-	-
3		236-236	8.7	3.6	0.026	3.4	14.4	120	0.76	-	-	-
4		312-292	8.9	4.4	0.184	4.2	14.4	120	4.40	-	-	-
5		317-312	9.3	3.9	0.575	4.5	14.4	120	12.80	-	-	-
6		300-283	9.1	4.0	0.020	4.8	17.0	120	0.42	-	-	-
7		396-388	10.0	4.0	0.977	7.8	20.1	120	12.50	-	-	-

38

TABLE

TABLA 3.
GRUPO CONTROL PARA dbAMPc y dbGMPC INTRACRANEAL
RESPUESTA OVULATORIA DE LA CARPA DORADA(C. auratus) AL TRATAMIENTO CON SOL.
SALINA. MAYO-AGOSTO. 1983

GRUPO	PEZ No	P.C.		Lst	F.C.	P.O.	P.G.	I.G.	P.E.100 P.C	HORAS	P.O.100 P.G	OVUL.
		INICIO-FINAL g g	CM									
1	19.6	19.0	8.0	3.8	0.428	3.4	17.9	120	12.6	-	-	-
2	25.0	23.3	8.7	3.8	0.320	3.3	14.2	120	9.7	-	-	-
3	28.4	28.7	9.2	3.7	0.000	5.2	18.1	120	0.0	-	-	-
4	49.0	46.4	10.3	4.5	0.000	8.6	18.5	120	0.0	-	-	-
5	33.6	32.5	9.4	4.1	0.000	5.0	15.4	120	0.0	-	-	-
6	33.0	30.2	9.7	3.6	0.000	4.8	15.9	120	0.0	-	-	-
7	29.7	28.6	9.4	3.6	0.126	4.3	15.0	120	2.9	-	-	-
8	27.3	26.9	9.0	3.7	0.255	5.3	19.7	120	4.8	-	-	-
9	30.0	29.0	8.7	4.6	0.780	4.1	14.1	96	19.0	-	-	-

SOLUCION SALINA (III)
(INTRACRANEAL)

TABLA 5

RESPUESTA OVULATORIA DE LA CARPA DORADA (*C. auratus*) AL TRATAMIENTO CON 45GMPc INTRACRANEAL (I.C.). MAYO-AGOSTO 1983

GRUPO	PEZ No	P.C.	INICIO-FINAL	LONGITUD ESTANDAR $\frac{L_{st}}{cm}$	FACTOR CONDIC. $\frac{FC}{L_{st}^2}$	PESO OVULOS GONADA $\frac{P.O.}{g}$	PESO SOMATICO $\frac{P.S.}{g}$	I-GONADO-SOMATICO $\frac{I.G.}{PC}$	LAPSO INY-OVUL. HORAS	INDICE OVUL. $\frac{PO}{PS}$
1	214-195	7.9	4.3	1.285	4.7	24.1	96	27.3	+	
2	26.0-24.0	8.8	3.8	0.659	3.1	13.0	72	21.3	+	
3	25.0-21.3	8.3	4.4	0.705	3.4	16.0	96	20.7	+	
4	18.2-16.5	7.9	3.7	0.759	4.5	27.3	72	16.9	-	
5	36.8-33.5	9.3	4.8	3.612	7.7	23.0	48	46.9	+	
6	50.0-45.2	10.7	4.1	2.755	9.0	19.9	48	30.6	+	
7	28.7-27.3	9.2	3.7	3.049	5.3	19.4	48	57.5	+	
8	32.2-30.6	9.5	3.8	2.324	4.7	15.7	4.8	49.5	+	
9	37.5-34.5	10.1	3.7	1.768	4.9	14.2	4.8	36.1	+	
10	37.2-32.0	10.2	3.5	1.543	5.1	15.9	9.6	30.3	+	
11	24.8-21.0	8.8	3.6	1.775	3.9	18.6	9.6	45.5	+	

(2) (intracranial)

ALTAMENTE SIGNIFICATIVO RESPECTO AL CONTROL (p<0.001) t-student-

4

TABLA 6

GRUPO CONTROL PARA EL dbGMPc INTRAPERITONEAL (I.P)
MAYO-AGOSTO. 1983

GRUPO	PEZ No	P.C. INICIO FINAL	LONGITUD ESTANDAR	FACTOR CONDIC.	PESO		LAPSO	INDICE
					OVULOS	OVUL.		
			CM	$\frac{P.C.}{L_{OP}^2} \times 100$	$\frac{P.O.}{P.C.}$	GRAMA	HORAS	$\frac{P.O.}{P.C.} \times 100$
	1	23.4-22.4	8.5	3.8	0.000	3.4	15.0	0.00
	2	27.1-26.1	8.8	4.0	0.000	4.7	18.0	0.00
	3	28.1-27.5	9.0	3.9	0.239	4.4	18.0	5.40
	4	25.3-24.8	8.5	4.1	0.288	5.1	20.6	5.70
	5	35.4-34.8	9.5	4.1	0.348	6.1	17.5	5.70
	6	44.0-43.1	10.5	3.8	0.477	7.7	17.9	6.20

(INTRAPERITONEAL)
SOLUCION SALINA (V)

TABLA 7.
 RESPUESTA OVULATORIA DE LA CARPA DORADA (C. auratus) AL TRATAMIENTO CON dbAMPc
 INTRAPERITONEAL (IP)
 MAYO - A GO STO. 1983

GRUPO	PEZ No	PESO CORPORAL	INICIO-FINAL	LONGITUD ESTANDAR		FC	Lst	CM	PC-100	PO	P0	P0	P0	INDICE GONAD.	INDICE INY OVUL	LAPSO HORAS	INDICE OVULACION	OVUL.
				PC	FC													
db AMPc (VI) (Intraperitoneal)	1	21.7-21.4	8.5	3.5	0.175	4.2	19.6	120	4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	28.7-27.6	8.6	4.2	0.413	4.9	17.8	120	8.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	28.7-27.0	9.0	3.9	0.248	5.5	20.4	120	4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	33.4-32.0	9.6	3.8	0.483	4.7	14.7	120	10.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	58.0-37.3	10.0	3.8	0.558	5.8	15.6	120	9.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	50.5-49.4	10.0	4.1	0.383	10.1	20.5	120	3.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NO SIGNIFICATIVO RESPECTO AL CONTROL (p < 0.054) - t- student -

TABLA 8
RESUMEN DE LOS VALORES PROMEDIOS OBTENIDOS CON LOS TRATAMIENTOS
MAYO-AGOSTO. 1983

GRUPO	No	DOSIS	PC±DE	Lst±DE	FC±DE	PO±DE	PG±DE	IG±DE	No ^o	PAO	I.O.-D.E
I	7	---	33.3±0.3	9.5±0.6	3.9±0.3	0.30±0.4	5.0±1.4	15.6±2.2	0	0.0	5.7±6.6
II	9	SOL.SALINA ^a	30.6±8.1	9.2±0.7	3.9±0.4	0.21±0.3	4.9±1.6	16.5±2.1	0	0.0	5.4±6.9
III	8	0.3dbAMP ^c	37.2±8.9	9.8±0.8	3.8±0.2	1.90±0.7	6.9±1.9	19.2±2.6	6	75.0	29.7±16.5
IV	11	0.3dbAMP ^c	30.9±9.3	9.2±0.9	3.9±0.4	1.80±1.0	5.1±1.8	18.8±4.5	10	90.9	34.8±13.4
V	6	SOL.SALINA ^b	30.5±7.8	9.1±0.8	4.0±0.1	0.22±0.2	5.2±1.5	17.6±2.0	0	0.0	3.8±3.0
VI	6	25dbAMP ^b	33.5±9.9	9.4±0.3	3.9±0.3	0.37±1.4	5.8±2.1	18.1±2.5	0	0.0	6.8±3.0

a= intracranial

b= intraperitoneal

DE=desviacion estandar

1= GRUPOS EXPERIMENTALES ALTAMENTE SIGNIFICATIVOS CON RESPECTO AL CONTROL (P<0.001)
 -PRUEBA-t-DE STUDENT-

2= GRUPO EXPERIMENTAL NO SIGNIFICATIVO CON RESPECTO AL CONTROL (P<0.4284).
 PRUEBA-t-DE STUDENT

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

- 45 -

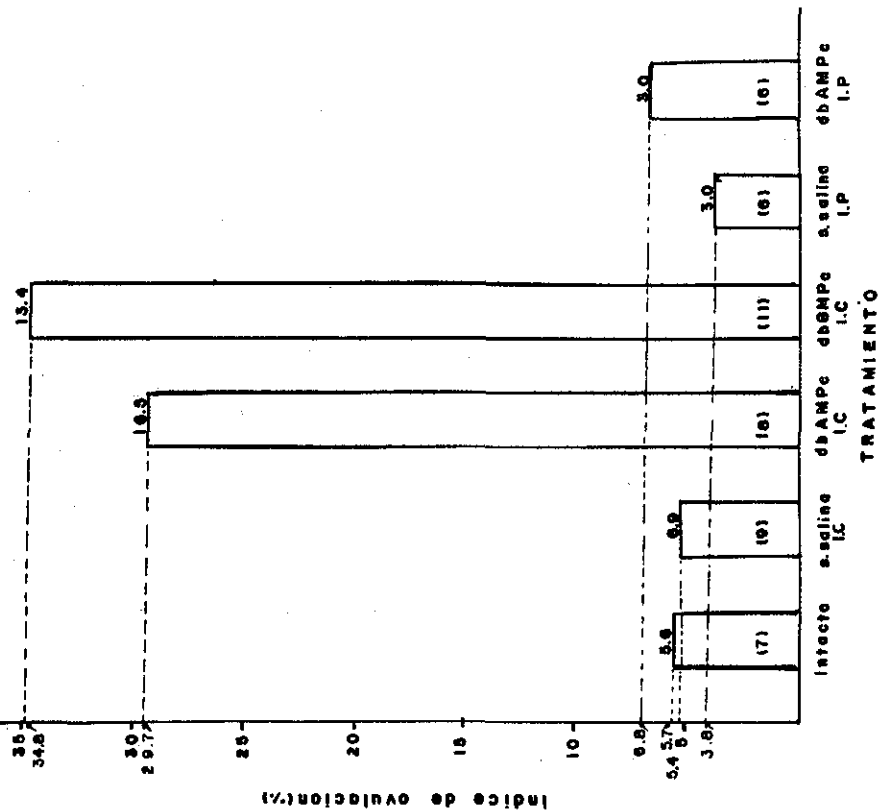


Fig. 1. Índice de ovulación alcanzado por el *Carausius auratus* mediante los diferentes tratamientos. El número dentro de la barra es el total de peces en cada grupo. El número encima de la barra indica la desviación estándar.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

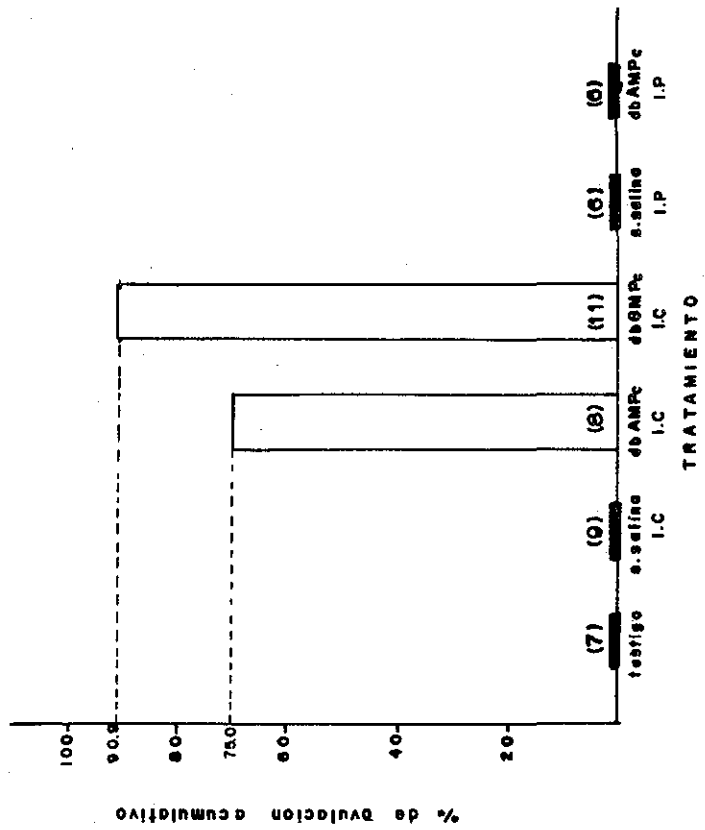


Fig. 2. Porcentajes acumulativos de evaluación alcanzado por el *Cerastius auratus* mediante los diferentes tratamientos. El número dentro de la barra es el total de peces en cada grupo.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

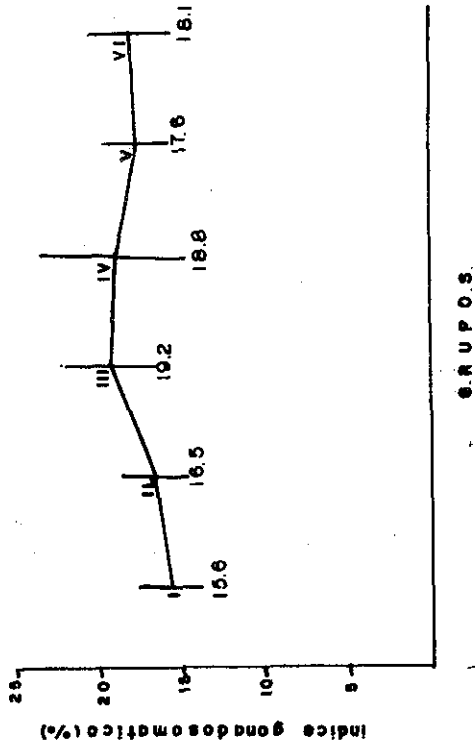


Fig. 3. Indices gondosomáticos obtenidos por los diferentes grupos tratados. Los barras verticales representan las desviaciones estándar de los grupos. Los números debajo de las barras representan los I.ºs

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

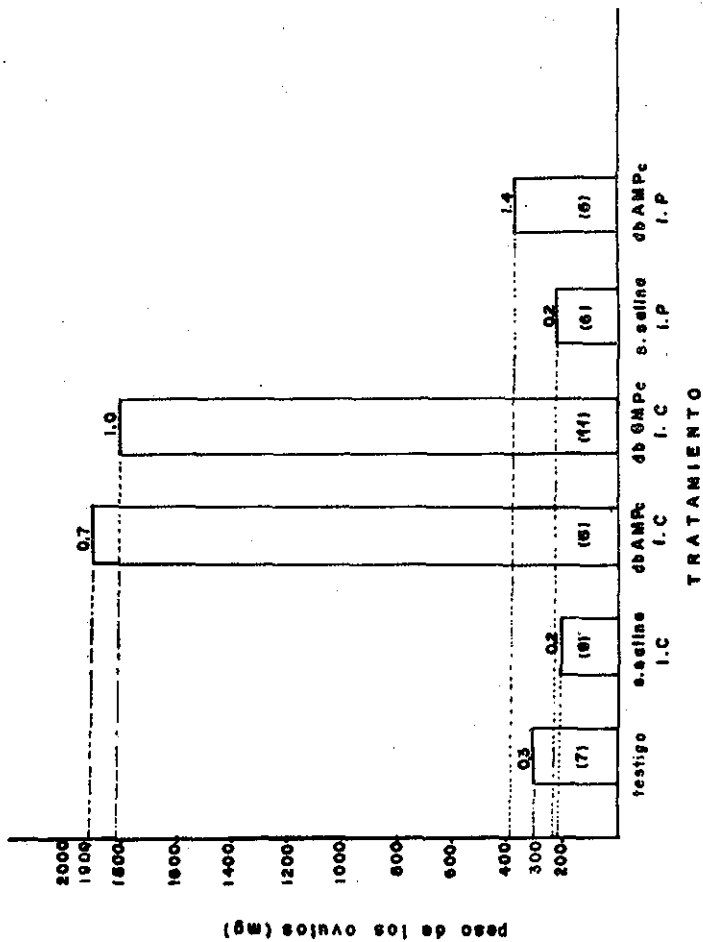


Fig. 4. Pesos de los óvulos entre los diferentes tratamientos. Los números dentro de las barras es el total de peces en cada grupo. Los números en la parte superior indican la desviación estándar.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

db AMPc (IC) db AMPc (I.P) db GMPc (IC)
 P₀ = 0.102 + 0.18 PC P₀ = 0.04 + 0.199 PC P₀ = 0.51 + 0.165 PC
 r = 0.864 r = 0.915 r = 0.7908

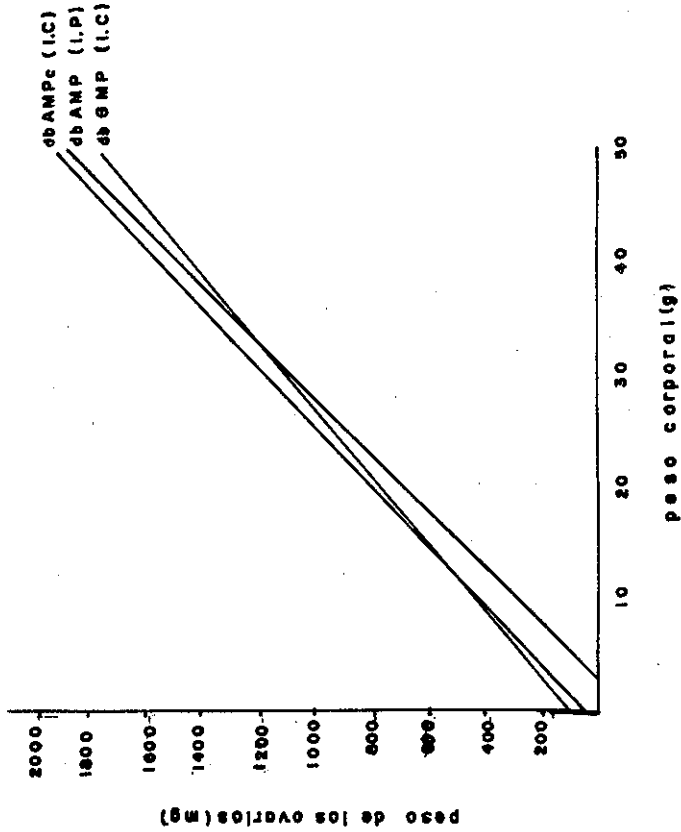


Fig. 5. Correlaciones lineales en C. auratus para tres grupos experimentales

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

- 50 -

dbAMPc(I.P)
P.O. = -1.4 + 2.18Lst
r = 0.839

dbAMPc(I.C)
P.O. = -11.8 + 1.9Lst
r = 0.832

dbC (I.C)
P.O. = -2.29 + 1.14Lst
r = 0.8059

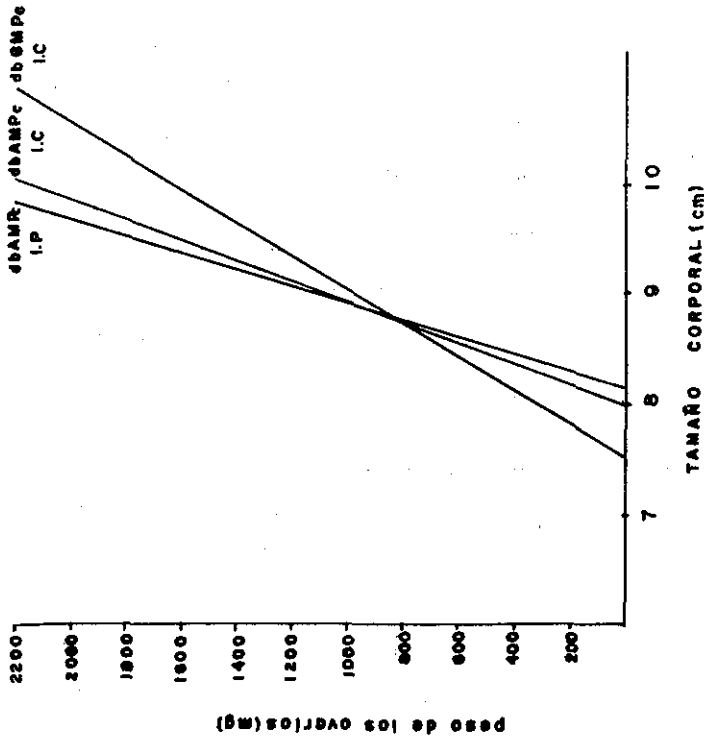
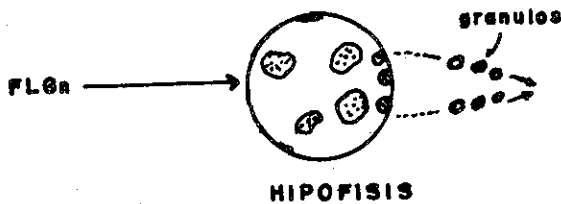


Fig. 6. Correcciones lineales en C. suratus para tres grupos experimentales.

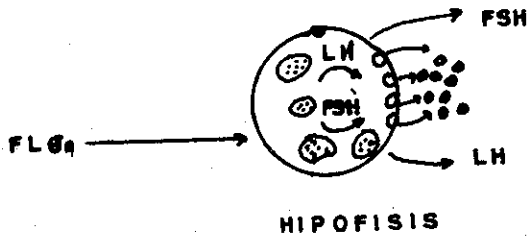
VII. D I S C U S I O N

Quando un tejido pituitario se pone en contacto con el factor liberador de gonadotropinas (FLG_n), la secreción de ellas se explica mediante dos procesos fundamentales (Kercret, 1977):

1. La primera etapa ocurre cuando el factor liberador alcanza la hipófisis, y es transitorio: esto representa la salida del contenido de los gránulos secretorios unidos o cercanos a la membrana celular



2. La segunda etapa se describe como intensa movilización de LH y FSH intracelular para compensar la pérdida de gránulos periféricos



Este mismo autor encuentra que con ayuda de ciertos inhibidores, tales como la teofilina, los nucleótidos cíclicos y sus derivados (dbAMPc y dbGMPc), han mostrado no promover la segunda fase de secreción por si mismo, como lo hace el factor liberador de gonadotropinas, deduciendo que su papel se ejerce a nivel de la membrana, donde activan el mecanismo liberador de gonadotropinas y no como transportador de ellas desde su respectivo lugar hacia la membrana.

Algunos derivados de nucleótidos cíclicos (Br-AMP y 8-BrGMP) inducen a la formación de receptores para la LH en las células de la granulosa, pero su nivel intracelular debe ser lo suficientemente alto para producir dicha inducción. El dbAMP y dbGMP cíclicos pueden tener diferentes mecanismos de acción en la inducción de receptores de LH, por ejemplo, el dbAMPc ejerce su efecto a través de la activación de una quinasa proteica, mientras que el dbGMP puede alterar el transporte de iones a través de la membrana de la granulosa.

Los eventos mencionados anteriormente son de gran importancia para poder explicar los resultados obtenidos en los grupos III y IV, a los cuales se les aplicó dbAMP y dbGMP intracraneal. Se ha sugerido que estos derivados aplicados en concentraciones efectivas, tienen acceso a los receptores hormonales y ejercen un tipo de modulación autocrina o paracrina de algunos eventos mediados por receptores (Smith,

1982).

El hecho de que mediante la aplicación de dbAMP y dbGMP cíclicos intracraneal se hayan obtenido expulsiones de huevos de 1.9 y 1.8 g respectivamente, e índices de ovulaciones de 29.7% y 34.8%, es indicativo de que estos derivados ejercen efectos similares en el mecanismo ovulatorio de la carpa dorada, Carassius auratus, en concordancia con la reciente teoría de Berridge (Fain et al, 1977), que postula que el antagonismo no se presenta entre el AMP y el GMP como se creía hace tiempo, más bien este se presenta entre el AMP y el Ca^{++} . La guanil ciclase es activada por el Ca^{++} , mientras que la adenil ciclase suele ser inhibida por él.

Un mecanismo que se propone para explicar la ovulación en aquellos grupos a los cuales se les aplicó el dbAMP y dbGMP intracraneal es el siguiente: Al inyectar las drogas intracranealmente, se aumenta la concentración intracelular del compuesto, lo que permite su difusión a través de la barrera hemato-encefálica, pues se conoce que dicha barrera está pobremente desarrollada en algunos elasmobranquios y en la carpa dorada, no así en los mamíferos (Murray, 1975). El hecho de aumentar en forma directa su concentración celular, conduce a que las proteínas que están en formas inactivas, se activen y este estímulo es proporcionado por la concentración de dbAMP y dbGMP cíclicos, puesto que

ellos van a alterar las propiedades funcionales de las proteínas mediante su fosforilación, dicha fosforilación conduce a cambios importantes en el funcionamiento neuronal, en este caso inducen a la liberación de gonadotropinas hipofisarias y esteroides que van a influir directamente en la maduración de los oocitos y posteriormente en la ovulación de la carpa dorada.

Es posible asumir que la dosis aplicada intracranealmente (0.3 ug/g de peso), es una cantidad fisiológicamente importante para desencadenar la ovulación en la carpa dorada, puesto que estos compuestos, al igual que el LH-RH y algunos antiestrogénicos, tales como el clomifeno y el tamoxifen, pueden tener efectos inhibitorios a altas dosis. Esto sirve de marco de referencia para tratar de investigar en futuros trabajos, las dosis mínimas y máximas a la cual los derivados de nucleótidos ejercen efectos positivos en la ovulación de otras especies de peces de interés comercial. (Fig. 7).

La causa de que se obtuviera un índice ovulatorio ligeramente mayor (34.8%) en el grupo al que se le aplicó -- dbGMPC con relación al tratado con dbAMPC (29.7%), y a la vez, mayores ovulaciones individuales con el primer tratamiento que con el segundo (Tabla 3 y 4), se explica por la existencia de una mayor conexión entre la aplicación de dbGMPC y la liberación de gonadotropinas; además el dbGMPC

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

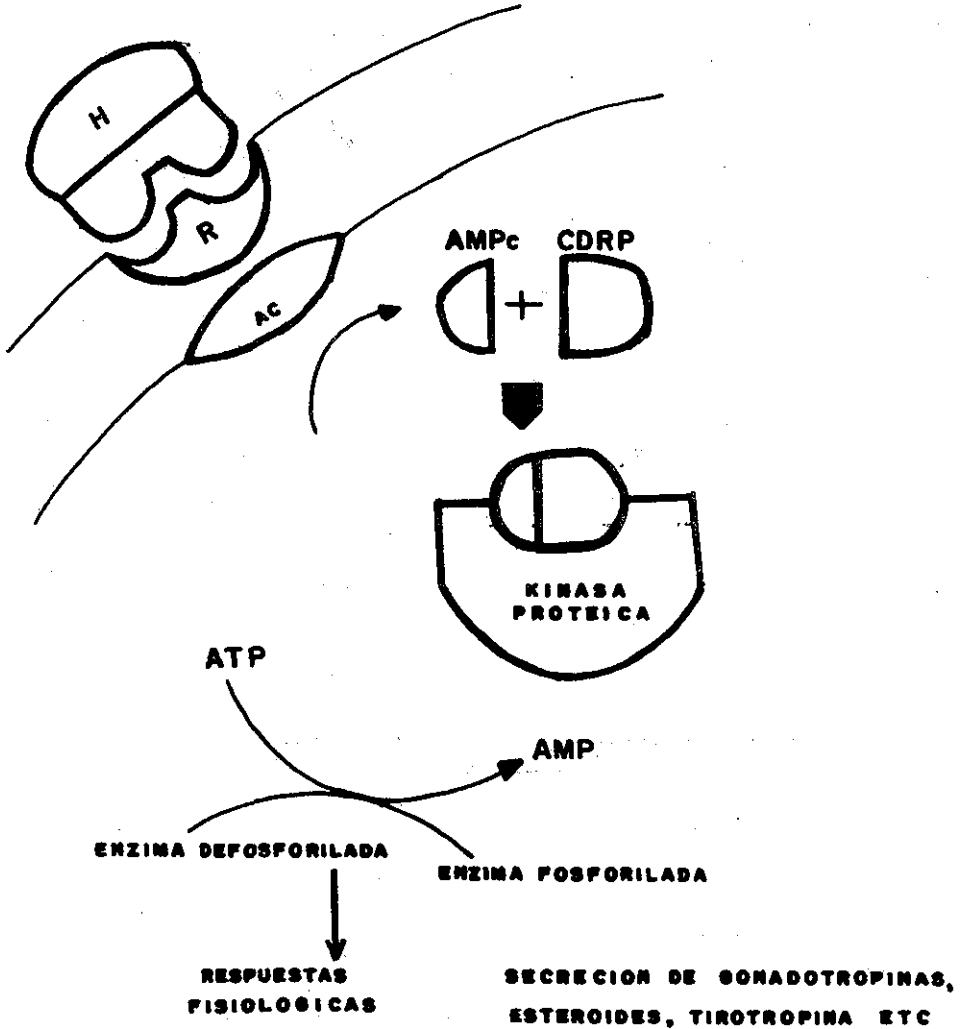


FIG. 7. REPRESENTACION ESQUEMATICA DEL PAPEL DEL AMPc

tiene una acción mucho más rápida que el dbAMPc. Esta explicación también es válida para las diferencias observadas en el porcentaje acumulativo de ovulación (P.A.O) en los grupos tratados intracranealmente con dbAMP (75.0%) y dbGMP (90.9%).

Es de suma importancia resaltar el hecho de que los derivados de nucleótidos cíclicos, como los que se utilizaron en esta investigación, tienen mayor efecto sobre la ovulación in vitro que los compuestos AMP y GMP, ya que los derivados cíclicos no pueden ser hidrolizados por las fosfodiesterasas que degradan al AMP y al GMP.

Cuando los peces fueron sometidos al tratamiento con dbAMPc intraperitoneal, el índice de ovulación fue de 6.8% y ninguna de las hembras tratadas alcanzó la ovulación. Los resultados obtenidos a través de esta vía tienen dos posibles explicaciones:

1. El nucleótido cíclico en su recorrido hasta la hipófisis sufre transformaciones por enzimas (fosfodiesterasas) a formas menos activas que son incapaces de desencadenar la liberación de gonadotropinas (Nakano et al, 1978).
2. La otra explicación está en concordancia con investigaciones realizadas por Masuri (1975) en oocitos de Xenopus laevis. El observó que niveles altos de dbAMPc

aplicados externamente antagonizan con la progesterona y por tanto inhiben la maduración del oocito dentro y fuera del folículo, lo que explica los resultados negativos en la ovulación de la carpa dorada.

Observaciones realizadas en otros países, tales como Canadá y Estados Unidos, indican que el desarrollo gonadal depende de la estación del año y que su máximo desarrollo se alcanza entre mayo y agosto, época en la cual ocurre la maduración del oocito y la ovulación. Mediante las observaciones realizadas en diferentes épocas del año en la carpa dorada que habita en los lagos y represas de México, se concluye que el desarrollo ovárico ocurre en cualquier época del año y que las ovulaciones y desoves son numerosos. Carpas capturadas en diciembre de 1982 presentaban un crecimiento avanzado de los ovarios, igual sucedió con las capturadas en febrero, abril y agosto de 1983.

Lo expuesto en el párrafo anterior induce a pensar que en el lote de carpas sometidas al tratamiento, algunas presentaban diferentes estados de desarrollo gonadal y el criterio que se utilizó para su elección no es el adecuado. Rothbard (1981), enfatiza que el abdomen abultado y la coloración rojiza del poro genital, algunas veces no funciona como criterio para afirmar que un pez está en condiciones aptas de maduración. Lo discutido anteriormente sirve como base para explicar el hecho de que algunas carpas que supues-

amente estaban maduras no hayan ovulado, además, está bien establecido que los agentes químicos que se utilizan para inducir el desove, actúan en forma positiva cuando los peces se encuentra en la última etapa de maduración (Yamasaki, 1965).

Si se observa las Tablas 3 y 4 correspondientes a los grupos a los cuales se les aplicó el dbAMP y dbGMP cíclicos se vé que algunas hembras con gónadas de gran peso, alcanzaron ovulaciones insignificantes en comparación con aquellas cuyos ovarios eran más pequeños. Esto se debe a que dichas especímenes, tal vez, ya habían tenido desoves previos antes del experimento, mientras que los peces de menor tamaño apenas experimentaban su primer desove y por eso sus descargas fueron más intensas.

Aunque existe una correlación significativa entre el peso del ovario y el peso corporal en la carpa (Fig. 6), las relaciones entre estos dos parámetros varía estacionalmente y como no existió interceptó cero en dicha correlación, entonces no se justifica el uso del índice gonadosomático (De Vlaming, 1982). Es de anotar que no hubo correlación significativa entre el índice de ovulación y el peso gonadal, por tanto no se hizo pertinente graficar sus relaciones lineales.

Por último, es de gran interés analizar el posible campo de aplicación de los nucleótidos cíclicos y sus derivados,

omo agentes inductores de la ovulación en especies de importancia en la piscicultura, como son el bagre, tilapias, carpas chinas, truchas, etc.

Si se analiza el costo de los derivados cíclicos con respecto al de algunos "agentes inductores" ellos son más económicos que los utilizados actualmente en las piscifactorías. Su valor es aproximadamente diez veces menor que el de LH-RH y gonadotropinas purificadas. Sus ventajas ante los extractos pituitarios es enorme, puesto que la reproducción inducida por este método implica el sacrificio de un gran número de animales.

Hay que tener en cuenta en base a los resultados obtenidos en este trabajo, que la dosis que se requirió fue del orden de los microgramos, lo que en sí implica una gran ventaja con respecto a los extractos hipofisarios, gonadotropinas purificadas y antiestrogénicos, compuestos que necesitan ser aplicados en dosis mayores (mg/g de peso) para inducir la ovulación y el desove. El alto costo de ellos justifica todo tipo de investigación que se haga para tratar de resolver los problemas pertinentes a los trastornos reproductivos que presentan los peces en cautiverio.

Queda por investigar en futuros experimentos, si estos derivados de nucleótidos cíclicos tienen mayor efectividad cuando se aplican en dosis repetidas y cuál es la mínima concentración que se necesita para inducir la ovulación.

Además el piscicultor tiene la ventaja de contar con un compuesto termostable que una vez diluído puede ser refrigerado por bastante tiempo y utilizar las dosis en el momento en que lo desee.

También es de mucha importancia, observar sus efectos cuando son potencializados con inhibidores de fosfodiesterasa, tales como teofilina y 3 isometil xantina, compuestos que refuerzan su acción. No es de desconocer que su aplicación intracraneal implica cierta destreza y tal vez ello represente un obstáculo para el piscicultor que se puede obviar mediante un entrenamiento.

VIII. CONCLUSIONES

Analizadas las diferentes variables que tienen relativa importancia en el mecanismo ovulatorio de la carpa dorada, Carassius auratus, se concluye que:

1. Los derivados de nucleótidos cíclicos, tales como dbAMP y dbGMP, ejercen un efecto positivo sobre la ovulación en la carpa dorada, cuando se administran intracranealmente. Por tanto, se deduce que ellos a través de esta vía, actúan como mediadores de la liberación de gonadotropinas, reproduciendo los efectos de las hormonas (LH y FSH) y participando en la ovulación.
2. El dbAMPc no tiene ningún efecto sobre la ovulación en la carpa dorada cuando es administrado vía intraperitoneal.
3. El dbAMP y dbGMP cíclicos son efectivos en inducir la ovulación a dosis de 0.3 µg/g de peso, cuando se aplican intracranealmente. El dbAMPc a dosis de 2.8 µg/g de peso aplicado intraperitonealmente no ejerció ningún efecto.
4. El dbAMP y el dbGMP cíclicos no tienen efectos positivos sobre el índice gonadosomático de la carpa dorada y dicho índice no fue fiel reflejo de la actividad gonadal.

5. El dbGMPc ejerce un efecto ligeramente mayor (34.8%) en la ovulación de la carpa dorada en relación con el dbAMPc (29.7%).

6. En algunos procesos, por ejemplo en la ovulación, el dbAMP y el dbGMP cíclicos poseen el mismo efecto aún cuando no fue de la misma magnitud, hecho comprobado a través de los resultados obtenidos en el experimento.

7. Realizados los análisis de correlación en los grupos a los cuales se les aplicó los derivados de nucleótidos cíclicos, se observa una gran correlación positiva entre el peso ovario y el tamaño corporal. Lo mismo puede decirse para el peso de los óvulos expulsados y el peso corporal.

8. A la luz de los resultados, los derivados de nucleótidos cíclicos (dbAMPy dbGMP), sirven como agentes inductores de la ovulación en la carpa dorada, puesto que su menor costo, dosis mínimas de aplicación y fácil almacenamiento, le dan muchas ventajas ante otros agentes inductores.

IX. BIBLIOGRAFIA

- ANONIMO. (Cooperative Team for Hormonal Application in Pisciculture). 1977. A new highly effective ovulating agent for fish reproduction. Practical application of LH-RH analogue for the induction of spawning of farm fishes. *Sci. Sin.* 20:469-474.
- ARIMURA, A., VILCHEZ-MARTINEZ, J.A., COY, D.H., E.J., HIROSTU, Y. y SCHALLY, A.V. 1974. D-ala⁶, Des-Gly-NH₂¹⁰- LH-RH- etylamide: a new analogue with unusually high LH-RH/ FSH-RH activity. *Endocrinology (E.U.)*, 95, 1174-1177.
- BEYER, C., CANCHOLA, E. y LARSSON, K. 1980. Facilitation of lordosis Behavior in the Ovariectomized Estrogen Primed Rat by Dibutyryl cAMP. *Physiology and Behavior*. Vol. 26: 249-251.
- BEYER, C., CANCHOLA, E., CRUZ, M.L. y LARSSON, K. 1981. A model for explaining estrogen- progesterone interactions in the induction of Lordosis Behavior. In: *Endocrinology*, J.A. Cumming, J.W. Funder and F.A.O. Mendelsohn (Eds.) pp 615-618
- BEYER, C., GOMORA, P., CANCHOLA, E y SANDOVAL, Y. 1982. Pharmacological Evidence that LH-RH Action on Lordosis Behavior is Mediated through a Rise in cAMP. *Physiology and Behavior*. Vol 28: 108-111.
- BRETON, B., JALABERT, B y WEIL, C. 1975. Caracterisation Partielle d'un Facteur Hypothalamique de liberation des Hormones gonadotropes chez la carpe (Cyprinus carpio L.)

- Stude in vitro. Gen. Com. Endocr. 25: 405-415.
- CHANG, Y. S. y HUANG, F.L. 1982 The mode of Action of Carp Gonadotropin in the Stimulation of Androgen Production by Carp Testis in Vitro. Gen. Com. Endocr. 48:147-153.
- CHAUDURI. H. 1976. Use of hormone in induced spawning of Carps. J. Fish. Res. Board. Can. 33: 940-947.
- CRIM, L.W., PETER, R.E. y BILLARD, R. 1976. Stimulation of gonadotropin secretion by Intraventricular Injection of Hypothalamic. Gen. Comp. Endocr. 30:77-82.
- DE VLAMING, V., GROSSMAN, G y CHAPMAN, F. 1982. On the use gonadosomatic index. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 73A (1): 31-39.
- DONALDSON, E.M., HUNTER, G.A. y DYE, H. 1981-1982. Induced Ovulation in "coho" salmon (Oncorhynchus kisutch). III Preliminary study on the use of the anti- estrogen tamoxifen. Aquaculture, 26: 143-154.
- .1981. Induced ovulation in "coho" salmon (Oncorhynchus kisutch). III. Preliminary study on the use of LH-RH and two high potency LH-RH analogues. Aquaculture, 26: 129-141.
- DONALDSON, E.M. 1973. Reproductive endocrinology of Fishes. Am. Zool. 13: 909-927.

DAVID, F.B. y CHOUINARD, A. 1980. Induced Fish Breeding in Southeast Asia. IDCR- 178e. Singapore, pp 3-48.

EPLER, P., BIENARZ, K y MAROSZ, E. 1982. The efect of low doses of carp hypophysial homogenate and some steroid hormones on carp (Cyprinus carpio L) oocyte maturation in vitro. Aquaculture, 126: 245-251.

FAIN, J.N. y BUTCHER, F.R. 1977. Cyclic nucleotides in mode of Hormones Action. In: Endocrine Physiology II. Vol. 16 (S.M. Mc Cann ed.). University Park. Press. Baltimore, pp 241-274.

FLACK, J.D. y RAMWEL, W. 1972. A comparison of the effect of ACTH, cyclic AMP, dibutyryl Cyclic AMP, and PGE₂ on Corticosteroidogenesis in vitro. Endocr. 90: 371-377.

FONTAINE-BERTRAND, E. 1977. Effect d'hormones gonadotropes, in vitro, sur la concentration de l'adenosine monophosphate cyclique dans l'ovarie de l'anguille (Anguilla anguilla). C.R. Acad. Sci. Paris. Ser D.

FONTAINE, M. 1976 Hormones and the control of reproduction in aquaculture. J. Fish. Res. Board. Can. 33: 922-939.

GOETZ, F.W., SMITH, D.C. y KRICKL, S.P. 1982 The effects of Prostaglandins, Phosphodiesterase inhibitors, and Cyclic AMP on ovulation of Brook Trout (Salvelinus fontinalis) Oocytes. Gen. Comp. Endocr. 48: 154-160.

GOETZ, F.W. 1983. Hormonal Control of Oocyte Final Maturation and Ovulation in Fishes. in: Fish Physiology. (Hoar and Randall eds.). Acad. Press. New York.

- GOETZ, F.W. y BERGMAN, H.L. 1978. The in vitro effects of mammalian and piscine gonadotropine and pituitary preparation on final maturation in yellow perch (Perca flavescens) and walleye (Stizostedion vitreum). Can. J. Zool. 56: 348-350.
- GOSWAMI, S.V. y SUNDARARAJ, B.I. 1974. Effects of C₁₈, C₁₉, and C₂₁ steroids on in vitro maturation of Oocytes of the Catfish, Heteropneustes fossilis (Bloch). Gen. Comp. Endocr. 23: 282-285.
- GREENBLATT, R.B., and S. DALLA PRIA. 1971. Clomiphene in women. In Fertility disturbance in men and women. Edited by C.A. Joel Karger, Basel. pp. 541-556.
- HARVEY, B.J. y HOAR, W.S. 1980. Teoría y Práctica de la Reproducción Inducida en los peces. IDRC-TS21 48 p.
- HIROSE, K., MACHIDA, Y. y DONALDSON, E.M. 1979. Induced ovulation of Japanese Flunder (Limanda yokohamae) with Special Reference to changes in Quality of Eggs Retained in the Ovarian Cavity after Ovulation. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 45(1): 31-36
- HIROSE, K., MACHIDA, Y. y DONALDSON, E.M. 1976. Induction of Ovulation in the Japanese Flounder (Limanda yokohamae) with Human Chorionic Gonadotropin and Salmon Gonadotropin, Bull. Jap. Soc. Sci. Fish 42(1): 13-20.
1974. Effects of Salmon gonadotropin on ovulation in the Ayu, Plecoglossus altivelis, with special reference to water balance. Comp. Biochem Physiol., 47A: 283-289.

- HIROSE, K. 1974. Endocrine control of ovulation in Medaka (Oryzias latipes) and Ayu (Plecoglossus altivelis). J. Fish. Res. Board. Can. 33:989-994.
- HONTELLA, A., y PETER, R.E. 1978. Daily cycles in serum gonadotropin levels in the goldfish: effects of photoperiod, temperature, and sexual condition. Can. J. Zool. 56:2430-2442.
- HOUSSAY, B.A. 1931. Action sexuelle de l'hypophyse sur les poissons et les reptiles. C.P. Soc. Bio. 106:377-378.
- HUNTER, G.A., DONALDSON, E.M., STONE, E.T. y DYE, H.M. 1978. Induced ovulation of female "chinook" salmon (Oncorhynchus tshawytscha) at a production hatchery. Aquaculture. 15:99-112.
- IDLER, D.R., BAZAR, L.S. y HWANG, S.J. 1975. Fish gonadotropin(s). III. Evidence for more than one gonadotropin in chum pituitary glands. Endocr. Res. Commun. 2:237-249.
- INNES, W.T. 1968. Exotic aquarium fishes. T.F.H. Publications, Inc. Jersey City, N.Y. 448 p.
- JALABERT, B. 1976. In vitro oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (S. gairdnerii), northern pike (Esox Lucius), and goldfish (C. auratus). J. Fish. Res. Board. Can. 33:974-988
- JALABERT, B., BRETON, B., BRUSKA, E., FOSTIER, A. y WIENIAWSKY, J. 1977. A new tool for induced spawning: the use of 17 L- hidroxy -20B dihidroprogesterone to spawn carp at low temperature. Aquaculture, 110:353-364.

- JACOBSON, A., MARSHALL, J.R., ROSS, G.T., Y CARGILLE, C.M. 1968. Plasma gonadotropins during clomiphene induced ovulatory cycles. Am. J. Obstet. Gynec. 102(2), 284-290.
- KUO, CH. M., SHEHADEH, Z.H. y MILISEN, K.K. 1973. Induced Spawning of Captive Grey Mullet (Mugil cephalus L.) Females by Injection of Human Chorionic Gonadotropin. Aquaculture, 1: 429-432.
- KERCRET, H., BENOIST, L. y DUVAL, J. 1977. Acute release of gonadotropins mediated by dibutyryl cyclic AMP in vitro. FEBS LETTERS. Vol. 83(2): 222-224.
- LABRIE, F., BORGEAT, N., LEMAY, A., LEMAIRE, S., BARDEN, N. y BELANGER, A. 1975. Role of Cyclic AMP in the Action of Hypothalamic Regulatory Hormones. In: Adv. Cyclic. Nucleot. Res. Vol. VI (Grengard, P and G.A. Robinson eds). New York. Raven Press. N.y.
- LAM, T.J. 1982. Application of endocrinology to fish culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39:111-137.
- LAM, T.J., PANDEY, S y HOAR, W.S. 1975. Induction of ovulation in goldfish by synthetic luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH). Can. J. Zool. 53:1189-1192.
- LAM, T.J. 1978. Endocrine control of oogenesis, ovulation and oviposition in goldfish In: Gaillard, P.J. and Boer, H.H. eds., Comparative Endocrinology. Amsterdam, Elsevier, 55-64.

- MAIA, H. Jr. y COUTINHO, E.M. 1974. Cyclic AMP and Oviduct Contractility. In: Physiology and genetic of Reproduction (Coutinho, E., and F. Fuchs. ed). Plenum Press. New York.
- MARSH, J.M. 1976. The role of Cyclic AMP in gonadal Steroidogenesis. Biology of Reproduction. 14, 30-53.
- MC-FARLAND, W.N., y G.W. KONZ. 1969. Anesthesia in fishes. Fed. Proc. 28(4):1535-1539.
- MARSH, J.M. 1975. The role of Cyclic AMP in gonadal Function. In: Adv. Cycl. Nucleot. Res. Vol. 6 (P. Greengard and Robison, G.A. eds). Raven Press. N.Y.
- MENNON, K.M. y GUNAGA, K.P. 1975. Role of Cyclic AMP in reproductive processes. Fert. and Ster. 25(8): 731-750.
- MINTON, R.V., HAWKE, J.P. y TATUM, W.M. 1983. Hormone induced spawning of Red snapper. Lutjanus campechanus. Aquaculture, 30: 363-368.
- MURRAY, M. 1975. The blood-Brain Barrier and ventricular system of Myxine glutinosa. Brains Res.: 99:17-33.
- NAKANO, C.P., FAWGET, F., KIMURA, F y McCANN, M. 1978. Evidence for the Involvement of guanosine 3' 5' Cyclic monophosphate in the Regulation of gonadotropin release. Endocr. 103:1527-1533.
- NAOR, Z., FAWCET, C.P. y McCANN, S.M. 1978. An Involvement of cGMP in LH-RH stimulated gonadotropin release. Am. J. Physiol. 235(6) E586-E590.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

- PANDEY, S., y HOAR, W.S. 1972. Induction of ovulation in goldfish by clomiphene citrate. *Can. J. Zool.* 50: 1679-1680.
- PANDEY, S., STACEY, N. y HOAR, W.S. 1973. Mode of Action of clomiphene citrate in inducing ovulation of goldfish. *Can. J. Zool.* 51:1315-1316.
- PANDEY, S., y STACEY, N. 1974. Antiestrogenic action of clomiphene citrate in goldfish. *Can. J. Zool.* 53:102-103.
- PETER, R.E. 1978. Regulating mechanism of the anterior pituitary. In: *Comparative Endocrinology*: 341-352 (P.J. Gaillard and H.H. Boer eds.). Elsevier, Amsterdam.
- PETER, R.E., y BILLARD, R. 1976. Effects of third Ventricle Injection of Prostaglandins on gonadotropin secretion in Goldfish Carassius auratus. *Gen. Comp. Endocr.* 30, 451-456.
- PICKFORD, G.E. 1980. Where is the spawning reflex receptor for neuro-hypophysial peptides in the Killifish, Fundulus heteroclitus. *Rev. Can. Biol.* 39:97-105
- RICHTER, C.J. y VAN DEN HURK, R. 1982. Effects of 11-desoxycorticosterone- acetate and carp pituitary suspension on follicle maturation in the ovaries of the African Catfish, Clarias Lazera. *Aquaculture*, 29: 53-66.
- RIGLER, G.L., PEAKE, G.T. y RATNER, A. 1978. Effect of luteinizing hormone releasing hormone on accumulation of pituitary cyclic AMP y GMP in vitro. *J. Endocr.* 76:367-367.

- ROBISON, G.A., BUTCHER, G.T. y SUTHERLAND, E.W. 1971. Cyclic AMP and Hormone Action: 17-46. In: Cyclic AMP. Academic Press. Ne York, N.Y.
- ROTHBARD, S. 1981. Induced reproduction in cultivated Cyprinids - the common carp and the grup of Chinese carp: 1. The technique of induction spawning and hatching. Badmidgeh. Vol. 33: 4-22.
- ROY, S., GREENBLATT, R.B., MAHESH, V.B. y JUNGCK, E.C. 1963. Clomiphene citrate: further observations on its use in induction of ovulation in the human and on its mode of action. Fert. Steril. 14:575-595.
- SANBORN, B.M., MEINDEL, J.J. y ROBISON, G.A. 1980. The role of Cyclic Nucleotides in reproductive processes. Ann. Rev. Physiol. 42: 37-57
- SANDERS, M., y MIDGLEY, A.R. 1983. Cyclic Nucleotides can Induced Luteinizing Hormone Receptor in Culture granulose cells. Endocr. 112: 1382-1388.
- SCHALLY, A. V., ARIMURA, A.J., KASTIN, H., MATSUO, Y. y DEBELJUK, L. 1971. Gonadotropin Releasing Hormone: One Polypeptide Regulates Secretion of Luteinizing and Follicle- Stimulating Hormones. Science, 1973: 1036-1037.
- SMITH, M.A., PERRIN, M.H. y VALE, W.W. 1982. Interaction of Adenosine 3', 5'- Monophosphate Derivatives with the gonadotropin- Releasing Hormones Receptor on Pituitary and Ovary. Endocr. 111(6): 1951-1957.

- SINGHAL, R. L. y SUTHERLAND, D.J.B. 1975. Cyclic 3', 5'- Adenosine Monophosphate and Accesory Sexual Organ Responses. In: Molec. Mech. of Gon. Horm. Action (J.A. Thomas and R.L. Singhal. eds). Ottawa, Canada.
- SCHULZ, R., SCHAGHECKE, R. y BLUM, V. 1981. Variations of gonadal cAMP- content of male and female rainbow trout, Salmon gairdnerii during the reproductive Cycle. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 70A: 53-56.
- SOWER, S.A., SCHRECK, C.B. y DONALDSON, E.M. 1982. Hormone induced ovulation of coho salmon (Oncoryhinchus Kisutch) held in seawater and fresh water. Can. J. Fish. Aq. Sci. 39: 627-632.
- STACEY, N.W., y PANDEY, S. 1975. Effects of Indomethacin and prostaglandins on ovulation of goldfish. Prostaglandins. 9(4): 597-607.
- STACEY, N.E., y PETER, R.E. 1979. Central Actions of Prostaglandins in Spawning Behavior of female Goldfish. Physiol. and Behavior (22): 1191-1196.
- SUNDARARAJ, B.I. y GOSWAMI, S.V. 1971. Effects of Salmon Pituitary gonadotropin Ovine Luteinizing Hormone and Testosterone in the Testes and Seminal Vexicle of Hypophysectomised Catfish, Heteropneustes fossilis (Bloch). Gen. Comp. Endocr. 17: 73-82.
- SUNDARARAJ, B.I. y DONALDSON, E.M. 1972. Effects of Carp pituitary fractions on vitellogenesis, ovarian maintenance, and ovulation in hypophysectomized catfish, Heteropneustes fossilis (Bloch). J. Endocr. 54: 87-98.

YAMASAKI, F. 1976. Application of hormone in fish culture.

J. Fish. Res. Board. Can. 33:948-958.

1965. Endocrinological studies on the reproduction of the female goldfish, Carassius, with special reference to the function of the pituitary gland. Mem. Fac: Fish., Hokkaido Univ. 1-64.

WARD, H.W. 1973. Anti-oestrogen therapy for breast cancer:

trial of tamoxifen at two doses levels. Br. Med. J. 1: 13-15.

WORTHINGTON, A.D. y MACFARLANE, N.A. 1983. The induction

spawning of roach, Rutilus rutilus L. with the antiestrogens clomiphene y tamoxifen. J. Fish. Biol. 22: 253-257.

WOYNAROVICH, E. y HORVATH, L. 1980. The Artificial propaga-

tion of warm- water finfishes a manual for extension
FAO. Fish. Tech. Pap. 201: 183 p.