

51262



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

"ZARAGOZA"

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

UN ESTUDIO SOBRE LA PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA NORADRENÉRGICO PERIFÉRICO EN LA REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO Y LA MADURACIÓN GONADAL DE LA TILAPIA DEL NILO *Oreochromis niloticus*.

T E  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA  
P R E S E N T A  
CÓRDOVA CÁRDENAS ALEJANDRO  
DE ESTUDIOS SUPERIORES  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Director de Tesis. Dr. ROBERTO DOMÍNGUEZ CASALÁ  
*La hoja de codificación de la Maestría en Ciencias (Biología de los sistemas humanos)*

MÉXICO D.F.,

MAYO 28 DEL 2000



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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES**

**"ZARAGOZA"**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**UN ESTUDIO SOBRE LA PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA  
NORADRENÉRGICO PERIFÉRICO EN LA REGULACIÓN DEL  
CRECIMIENTO Y LA MADURACIÓN GONADAL DE LA TILAPIA DEL NILO**  
*Oreochromis niloticus.*

**AUTOR: CÓRDOVA CÁRDENAS ALEJANDRO**

**DIRECTOR : Dr. ROBERTO DOMÍNGUEZ CASALÁ**

**La tesis fue desarrollada en la Unidad de Investigación de Biología de la  
Reproducción y en el laboratorio de Limnología de la Facultad de  
Estudios Superiores "Zaragoza".**

**Durante el desarrollo de la tesis se contó con el apoyo de PADEP  
proyecto 101001, el CONACYT proyecto 29006N y DEGAPA proyecto  
IN1719.**

**MÉXICO, D.F.**

**MAYO 28 DEL 2000**

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Roberto Domínguez Casalá por la dirección y la ayuda en la elaboración de ésta tesis.

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá  
Dra. Anabella Handal Silva  
Dr. Xavier Chiappa Carrara  
Dr. Ma. Luisa Fanjul Peña  
Dr. Alejandro D. Domínguez González

Por sus invaluable comentarios, observaciones y recomendaciones realizadas al presente escrito.

A la Dra. Bertha Peña Mendoza y al M. en C. José Luis Gómez Marques y Dr. Isaías H. Salgado U. por su insustituible asesoría, amistad y consejos de siempre seguir adelante.

A todos los integrantes del Laboratorio de Limnología:

|                             |                             |                         |
|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Biól. Mercedes Garduño P.   | Biól. Oscar Flores M.       | Q.F.B Sandra Ortega     |
| Biól. Juan Avelar E.        | Biól. José Luis Guzmán      | P. Biól., Silvia Ramos  |
| P. Biól. Mitsui V. Saito Q. | Biól. Gabriel Jarramillo S. | Biól. Antonio Sánchez   |
| P. Biól. Efrén Romero M.    | Est. Diana Ramírez N.       | Est. Claudia Cruz M.    |
| Est. Gustavo Perez O.       | Est. José Patlani S.        | Est. Patricia García L. |
| Est. Alejandro Texcahua     |                             |                         |

A todos los integrantes de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción y en particular a la Dra. Ma. Elena Ayala Escobar por la asesoría y apoyo en el trabajo de cromatografía, a la Dra. Leticia Morales Ledesma por ser una excelente maestra y brindarme su amistad, así como a la laboratorista Ma. Luisa Illescas Vera por su apoyo en las técnicas histológicas.

A la piscifactoría Zacatepec pertenecientes a la SEMARNAP del Estado de Morelos, por la donación de crías para la realización de este trabajo.

**A MIS PADRES**

Ma. LUISA CÁRDENAS GARCÍA  
JOSÉ CÓRDOVA ROLDAN

**HERMANOS**

ESTHER CÓRDOVA CÁRDENAS  
JOSÉ DANIEL CÓRDOVA CÁRDENAS  
GLORIA CÓRDOVA CÁRDENAS  
LUIS VICTOR CÓRDOVA CÁRDENAS

**SOBRINOS**

YESICA CÓRDOVA CÁRDENAS  
FELIPE CÓRDOVA CÁRDENAS  
CESAR VILLANUEVA CÓRDOVA  
DANIELA CÓRDOVA ALVAREZ  
DIANA G. VILLANUEVA CÓRDOVA  
SAID URIEL CÓRDOVA ALVAREZ

"Para los Piel Rojas el aire es de un valor incalculable, ya que todos los seres compartimos el mismo aliento, todos: los árboles, los animales, los hombre. Los Caras Pálidas no tienen conciencia del aire que respiran, son moribundos insensibles a lo pestilente"

Carta del Jefe Piel Roja Seattle al  
Presidente de los Estados Unidos en  
1854

## ÍNDICE

| Contenido:   | Página |
|--|--------|
| RESUMEN  | i      |
| INTRODUCCIÓN   | 1      |
| ANTECEDENTES   | 2      |
| 1. HIPOTÁLAMO  | 2      |
| 2. HORMONA LIBERADORA DE LA GONADOTROPINA (GnRH)                 | 2      |
| INERVACIÓN GONADAL   | 8      |
| DIAGNOSIS DE LA FAMILIA CICLIDAE                                 | 14     |
| POSICIÓN TAXONÓMICA DE <i>Oreochromis niloticus</i> .            | 15     |
| CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO <i>Oreochromis</i> PRESENTE EN MÉXICO | 15     |
| CARACTERÍSTICAS DE LA GUANETIDINA GTD                            | 18     |
| CARACTERÍSTICAS DE LA HORMONA CORIÓNICA HUMANA (hCG)             | 19     |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA                                       | 20     |
| HIPÓTESIS  | 21     |
| OBJETIVO GENERAL   | 21     |
| OBJETIVOS PARTICULARES   | 21     |
| DISEÑO EXPERIMENTAL  | 22     |
| MÉTODOS  | 22     |
| PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA  | 23     |
| PROCEDIMIENTO DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN        | 23     |
| PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL                                       | 24     |
| EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS                                     | 25     |
| RESULTADOS   | 26     |
| GTD 25 y 30 °C   | 26     |
| CATECOLAMINAS 25 y 30 °C   | 32     |
| EXPERIMENTO 2  | 37     |
| hCG 25 y 30 °C   | 38     |
| RESULTADOS   | 38     |
| GTD + hCG 25 y 30 °C   | 44     |
| RESULTADOS   | 44     |
| DISCUSIÓN  | 50     |
| CONCLUSIONES   | 56     |
| PROPUESTAS   | 57     |
| CITAS  | 58     |

## RESUMEN

En este estudio se evaluó en *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad la desnervación simpática periférica con GTD (20 mg/kg im. cada tercer día por un mes) y la estimulación hormonal con hCG (50 UI im cada tercer día por diez días) en peces tratados con GTD (20 mg/kg im cada tercer día por veinte días) a temperatura constante de 25 o 30°C y aireación continua en acuarios de vidrio de 40 litros de capacidad.

Los efectos de la desnervación simpática periférica con GTD sobre el crecimiento y maduración de las hembras de *Oreochromis niloticus* sometidas a temperatura de 25 °C provocó menor crecimiento corporal y maduración (peso de gónadas), no así en las hembras mantenidas a 30 °C. El peso corporal y gonadal de las hembras desnervadas mantenidas a 30 °C, fue significativamente mayor que el observado en las hembras mantenidas a 25 °C.

En los machos no se presentaron diferencias significativas entre los valores de los grupos testigo, a los que se les aplicó solución salina y a los desnervados sometidos a 25 y 30°C.

Estos resultados indican que a 25°C en *Oreochromis niloticus* la desnervación periférica provocada por la inyección de guanetidina afectó de manera inhibitoria el crecimiento de las hembras y no afectó el de los machos. En las hembras y machos mantenidas a 30°C no se observaron diferencias significativas en el crecimiento entre sexos de los diferentes grupos testigo y tratados.

La desnervación simpática periférica en hembras y machos no modificó la concentración de noradrenalina ni la actividad neuronal noradrenérgica en el hipotálamo de los peces mantenidos a temperatura de 25 y 30°C. El tratamiento con GTD abolió los cambios inducidos por la inyección de solución salina (estrés inespecífico).

No se observaron cambios significativos en la concentración de NA, MHPG y actividad neural entre hembras y machos testigos y tratados con GTD sometidos a 30°C. La administración de la solución salina en las hembras y machos no modificó las concentraciones de NA pero si las de MHPG, donde la concentración de las hembras estuvo por debajo de la sensibilidad del método, lo que se refleja en la actividad neuronal.

El tratamiento con hCG en hembras a 25°C provocó menor crecimiento en la longitud patrón (no fue estadísticamente significativo), en el peso corporal y de los ovarios, en comparación con los animales testigo y tratados con solución salina. En los machos sometidos a 25°C provocó aumento significativo del peso corporal y de las gónadas.

Con la aplicación de 50 UI de hCG el crecimiento en peso y longitud de los machos de *Oreochromis niloticus* mantenidos a temperatura de 25°C responden al tratamiento hormonal con aumento de ambos parámetros, mientras que las hembras no respondieron. Cuando los animales fueron sometidos a 30 °C, la temperatura abolió los efectos producidos por la inyección de hCG sobre el crecimiento ponderal de los machos, pero no sobre la longitud. La respuesta de las hembras en los parámetros estudiados no fue afectada por el tratamiento con hCG a esta temperatura.

El peso corporal de las hembras desnervadas a 25°C y tratadas con hCG fue significativamente mayor que el de los animales tratados solo con hCG o GTD. La desnervación simpática y la estimulación gonadotrópica de las hembras mantenidas a 30°C no afectaron el crecimiento. Sin embargo al comparar los peso de los ovarios de los animales desnervados y los desnervados con estimulación gonadotrópica se observó un crecimiento gonadal significativamente menor. Cuando los machos fueron mantenidos a 25°C, la estimulación gonadotrópica revirtió los efectos de la desnervación simpática sobre el peso gonadal y el índice gonadosomático. Efecto que no se observa en los machos sometidos a 30°C.

La aplicación de hCG 50 UI y la desnervación periférica independientes inhibieron el crecimiento ponderal de las hembras pero no el de los machos a 25°C. Por otro lado en los animales expuestos a 30° sólo se registró diferencias significativas en el crecimiento longitudinal entre los sexos en el grupo con GTD+hCG.

Con los resultados de este trabajo en conjunto y las evidencias bibliográficas permiten establecer que la desnervación periférica con guanetidina afecta de forma diferencial a hembras y machos de *Oreochromis niloticus*, en el crecimiento y maduración en las gónadas dependiendo de la temperatura a la que se exponen (25 o 30 °C). Por último a partir de los resultados obtenidos en la concentración de la noradrenalina en el hipotálamo se puede establecer que la guanetidina no fue capaz de atravesar la barrera hematoencefálica de *Oreochromis niloticus*, únicamente se presentan los efectos provocados a nivel periférico

## INTRODUCCION

En los peces, como en otros grupos de organismos, la selección natural ha favorecido la evolución de características ligadas a la supervivencia y a la reproducción. Frecuentemente los procesos reproductivos exhiben ritmos endógenos controlados por relojes biológicos internos, así como por la percepción de señales ambientales exógenas (temperatura, fotoperiodo etc..) (Baggerman, 1990). La reproducción durante las condiciones ambientales óptimas representa la supervivencia de la descendencia y es el proceso por el cual las especies se perpetúan. La variabilidad de las condiciones ambientales durante el año dependen, en parte, de la latitud geográfica. Para los peces teleósteos de las zonas templadas los cambios se encuentran correlacionados con las estaciones anuales y éstas se vinculan con los ciclos reproductivos. En las zonas tropicales los cambios son poco extremosos y una gran cantidad de peces exhiben patrones reproductivos todo el año (Lam 1983).

Fisiológicamente en los peces, como en los vertebrados, la estabilidad del medio interno depende de la actividad coordinada de los sistemas endocrino, nervioso e inmunológico. Estos sistemas actúan coordinadamente en la regulación de los procesos fisiológicos, entre ellos el reproductivo. Las etapas principales de la reproducción son como un eje, desde la percepción de estímulos ambientales hasta la liberación de los gametos. La traducción de la información neural a la hormonal se realiza entre el hipotálamo parte neural y la hipófisis parte hormonal.

## ANTECEDENTES

### 1. HIPOTÁLAMO

El hipotálamo controla las funciones de la hipófisis anterior (adenohipófisis) por medio de neurohormonas o factores de liberación, que inducen la síntesis y secreción de las hormonas. Además, el hipotálamo envía fibras de proyección hacia la neurohipófisis, constituidas principalmente por los axones de las neuronas ubicadas en los núcleos paraventricular (NPV) y supraóptico (NSO). La relación que se establece entre el hipotálamo y la adenohipófisis está dado por conexiones vasculares (sistema porta hipofisiario) (Ruiz, 1988). Las vénulas portales hipofisiarias son de gran importancia funcional porque llevan la sangre y, con ella, los factores liberadores secretados por el hipotálamo que estimulan la actividad de la glándulas hipofisiarias. El conocimiento de estas conexiones vasculares y nerviosas es esencial para la comprensión del mecanismo mediante el cual el hipotálamo controla la liberación de las secreciones de las células neurosecretoras, en tanto que la hipófisis controla la actividad reproductora por vía hormonal. (Ruiz, 1988).

### 2. HORMONA LIBERADORA DE LA GONADOTROPINA (GnRH)

La hormona liberadora de la gonadotropinas (GnRH, por sus sigla en ingles) juega un papel importante en la reproducción. La existencia de este neuropéptido, también llamado hormona liberadora de la hormona lutenizante (LHRH, por sus siglas en ingles), fue intuido en los años 50, pero la estructura del péptido no fue descrita hasta principios de la década de los 70, a partir de estudios realizados en hipotálamo de ovinos y porcinos ( Schally y col., 1971 en Matsuo, 1971). La GnRH es un decapeptido que regula la secreción de las gonadotropinas, la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en ingles) y hormona lutenizante (LH, por sus siglas en ingles)). En los 20 años posteriores únicamente se reconoció la existencia de una forma de GnRH en el cerebro de los mamíferos. Sin embargo, en la actualidad se ha identificado una isoforma de GnRH en el

cerebro del mono *Rhesus* con características similares a la del GnRH-II de pollo, aunque su función es aun desconocida (Lescheid y col., 1997).

La molécula de GnRH existe desde hace mas de 500 millones de años (Sherwood, 1993; Powell y col., 1994; Lescheid y col., 1997). Actualmente se han identificado 12 isoformas de GnRH en diferentes especies, desde los protocordados hasta los mamíferos (Lescheid y col., 1997). Tunicata tGnRH-I tGnRH-II, agnata (lamprea) aGnRH-I y aGnRH-III, peces óseos (salmón) sGnRH, (pez gato) pgGnRH, (pez perro) ppGnRH, ave (pollo) pGnRH-I pGnRH-II, mamífero (oveja, cerdo, humano, rata y mono) mGnRH, y por último Hidroxi-Pro<sup>9</sup> GnRH. Estudios de biología molecular han mostrado que la GnRH humana es idéntica a la de otros mamíferos (Stojilkovic y col. 1989; 1992). Las diferentes isoformas de GnRH constituyen una familia de péptidos estructuralmente relacionadas. Son deca péptidos con al menos un 50% de la secuencia de aminoácidos idéntica y conservan sus terminaciones amino y carboxilo (Figura 1) (Powell y col., 1994, Lescheid y col., 1997).

**Figura 1.** Isoformasformas de GnRH.

| Especie      | 1     | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10                  |
|--------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------------------|
| Brema marina | pGLU- | HIS- | TRP- | SER- | TYR- | GLY- | LEU- | SER- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |
| Mamífero     | pGLU- | HIS- | TRP- | SER- | TYR- | GLY- | LEU- | ARG- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |
| Pollo -I     | pGLU- | HIS- | TRP- | SER- | TYR- | GLY- | LEU- | GLN- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |
| Pez gato     | pGLU- | HIS- | TRP- | SER- | HIS- | GLY- | LEU- | ASN- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |
| Salmón       | pGLU- | HIS- | TRP- | SER- | TYR- | GLY- | TRP- | LEU- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |
| Pollo-II     | pGLU- | HIS- | TRP- | SER- | HIS- | GLY- | TRP- | TYR- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |
| Pez perro    | pGLU- | HIS- | TRP- | SER- | HIS- | GLY- | TRP- | LEU- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |
| Lampera-III  | pGLU- | HIS- | TRP- | SER- | HIS- | ASP- | TRP- | LYS- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |
| Lampera-I    | pGLU- | HIS- | TYR- | SER- | LEU- | GLU- | TRP- | LYS- | PRO- | GLY-NH <sub>2</sub> |

(Powell, 1994) Se resaltan las porciones de las moléculas que se han mantenido filogenéticamente iguales.

La secreción de GnRh hipotálmica es regulada por una gran variedad de neurotransmisores y hormonas (Chang, 1983), (Peter y col., 1990) como los estrógenos. Estudios *in vivo* e *in vitro* han mostrado que la dopamina (DA), la noradrenalina (NA) (Yu y col., 1992), la serotonina (5-HT) (Somoza y col.1991 ), la arginina (Groves y Batten, 1986), la acetilcolina, el ácido  $\gamma$ - amino butírico (GABA) y el neuropéptido Y (Bretón, 1989) modulan la secreción de la GnRH y por ende de las gonadotropinas.

El proceso reproductor en los peces, como en el resto de los vertebrados, depende de la interacción del sistema neuroendócrino, conformado por hipotálamo, hipófisis y gónadas (Rodríguez, 1992; Redding y Patiño, 1993) (Figura 2).

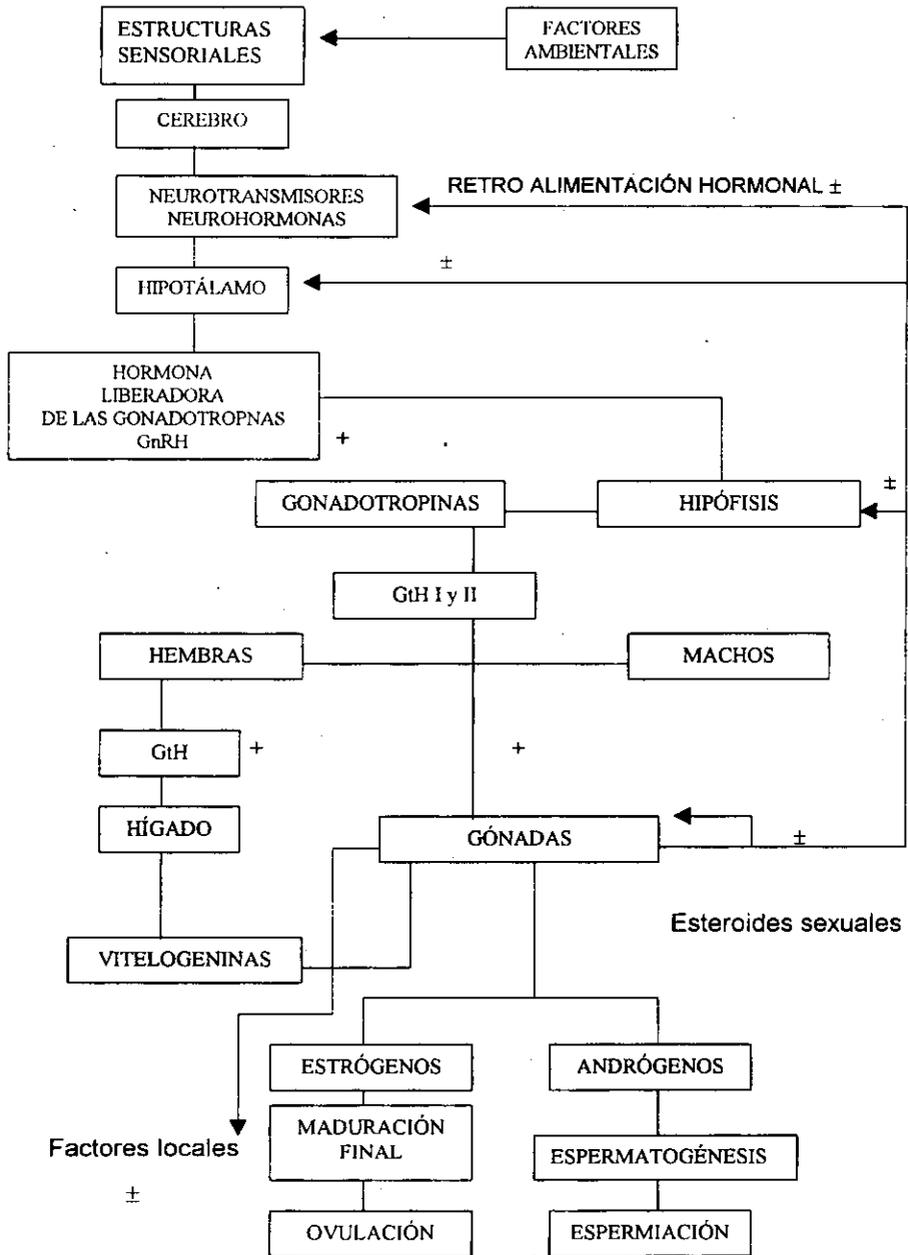


Figura 2. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónadas (modificado de Harvey y Hovar, 1980 y de Redding y Patiño, 1993)

El sistema neuroendócrino forma el nexo de más importancia entre el ambiente y los órganos reproductores. Las condiciones cambiantes del ambiente operan a través de los sentidos y centros específicos en el cerebro y estimulan o inhiben neurosecreciones que regulan la actividad del eje glándula hipófisis. Las hormonas hipofisarias afectan directamente la gametogénesis, el metabolismo y la conducta; estas hormonas también regulan el desarrollo de los tejidos endocrinos de la gónada. La coordinación de los eventos de la reproducción se lleva a cabo por medio de la retroalimentación de la información hormonal de la gónada con el hipotálamo y la hipófisis (Hoard y Randall, 1969).

Estudios recientes han mostrado que en la hipófisis de algunas especies de teleósteos (Tanaka y col., 1995; Elizur y col., 1995, 1996) como el salmón (*Oncorhynchus keta*), el pez dorado (*Carassius aureatus*) y la carpa (*Cyprinus carpio*) (Kawauchi, 1989; Vanderkraak, 1992), se producen dos tipos de gonadotropinas químicamente diferentes; la hormona gonadotrópica I (Gth I) y la hormona gonadotrópica II (Gth II). En el pez gato sólo se ha descrito una gonadotropina (Schultz y col., 1995). La hormona gonadotrópica I es estructural y funcionalmente comparable con la FSH y está relacionada con la regulación del proceso de vitelogénesis. La hormona gonadotrópica II es similar a la LH, se encuentra vinculada a la última etapa de la vitelogénesis y justo antes de la maduración de los gametos (Wasserman y Smith, 1978) y durante el desove (Idler, 1983; Davies y col., 1995; Prat y col., 1996; Saligaut y col., 1998) exhibe un aumento brusco en su concentración plasmática ("pico").

En las gónadas, la producción de gametos y la esteroidogénesis son estimuladas por las hormonas gonadotrópicas. La contribución relativa de cada una de ellas parece variar dependiendo del estado de desarrollo de los peces, lo que se traduce en distintas expresiones temporales y perfiles de liberación de Gth I y Gth II (Suzuki, 1988; Nozaki y col., 1990; Schultz y col., 1995; Elizur y col., 1995; Merie y col., 1995; Sansón, Dickey, 1996). Se ha mostrado que la

administración de gonadotropina coriónica humana (hCG) a los peces induce la liberación de los óvulos debido al efecto similar de esta hormona con la LH (Sundajara, Goswami 1966 ; Lagler, 1984).

En los peces, el sistema adrenérgico participa en la regulación de la reproducción de modo semejante al de los vertebrados superiores. Existen dos grupos principales de células adrenérgicas: neuronas adrenérgicas y células cromafines. Estas células presentan origen embriológico común y la capacidad de sintetizar, almacenar y liberar NA, DA y adrenalina (A) (Evans, 1993).

Los primeros estudios en peces sobre la participación de las catecolaminas en la regulación de la secreción de gonadotropinas han sido documentados por Peter (1980, 1990). Resultados de estudios en el pez dorado mostraron que la dopamina tiene un efecto inhibitorio directo sobre la liberación de gonadotropinas, en tanto que la noradrenalina tiene un efecto estimulador directo a nivel de la hipófisis (Chang, 1984; 1991). Existen evidencias de que la regulación neuroendocrina de la GtH II involucra un complejo juego de neurotransmisores y neuropéptidos con efectos estimuladores e inhibitorios. En el pez dorado, la serotonina y noradrenalina estimulan la liberación de GtH II (Somoza, Peter, 1991). La dopamina es el único neurotransmisor identificado que inhibe la secreción de GtH II. Este efecto originalmente demostrado en ciprínidos (Billard y col., 1983; Chang y col., 1984; 1990; Omeljaniuk y col., 1987), ha sido también observado en otras especies de peces entre los se incluyen a los silúridos (De Leeuw, 1986), anguilas europeas (Dufour y col., 1988) y sugerido en salmónidos (Billard y col., 1984; Linard y col., 1995). En la trucha, durante el periodo preovulatorio aparece un tono inhibitorio que se correlaciona positivamente con la concentración plasmática de estrógenos (E<sub>2</sub>) (Linard y col., 1995). También se ha demostrado que el neurotransmisor GABA juega un papel inhibitorio en la regulación de la producción de noradrenalina (Trudeau y col., 1993). Tanto en el pez dorado, como en la trucha, algunas neuronas dopaminérgicas de la región

preóptica ventral anterior se proyectan a la pars distalis proximal de la hipófisis (Peters y Pauleuncu, 1980; Khan y col., 1987; Linard y col. 1996). Por otra parte, en la trucha arcoiris las neuronas dopaminérgicas del área preóptica presentan receptores a estrógenos (RE) (Linard y col., 1996), lo que provee un sustrato neuroanatómico para la interacción DA-estradiol. Estas interacciones neuroanatómicas encontradas en el pez maduro no han sido investigadas en animales inmaduros, o en el proceso de la vitelogénesis. Se especula que durante la vitelogénesis la concentración de  $E_2$  es alta, mientras que la de DA es baja, lo que permitiría mantener la secreción de GtH II. Estudios al inicio y la mitad de la fase de maduración en hembras de pez dorado muestran que 24 horas después de la inyección de reserpina (fármaco que depleta la NA, DA de las terminales nerviosas centrales y periféricas y bloquea su síntesis) se produce un incremento significativo en la concentración sérica de la GtH, hecho que se explica por el aumento en la actividad de los gonadotropos. Este efecto no se observó 6 horas después del tratamiento y los autores sugieren que las neuronas catecolaminérgicas inhiben la liberación de la GtH (Chang, Peter, 1983). Esto último es contradictorio con lo afirmado previamente respecto a DA y NA ya que la reserpina provoca una depleción total de las monoaminas cerebrales (NA, DA, 5-HT).

#### INERVACIÓN GONADAL

En los mamíferos, la inervación noradrenérgica de los ovarios participa en los mecanismos que regulan el crecimiento, la diferenciación folicular y la ovulación (Fink, 1986) al modular la respuesta de las células tecales y de la granulosa de los folículos a la FSH y LH.

Los folículos ováricos de los teleosteós se parecen al de los mamíferos. Están compuestos por dos capas, la exterior llamada teca y granulosa, separadas por una lamina basal gruesa. La teca se compone de células productoras de

esteroides, fibroblastos y fibras de colágeno; mientras que la granulosa consiste de una capa simple de células uniformes (Nagahama, 1983). Ambas estructuras participan de manera conjunta en la síntesis de estrógenos (Norris y Jones, 1987).

En la síntesis de estrógenos participan los dos tipos de células foliculares: la célula tecointerstitial, que a partir del colesterol que obtienen del plasma sanguíneo, o de acetato, sintetiza andrógenos (androstenediona, testosterona o  $P_4$ ), los cuales atraviesan la membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa donde son aromatizados (Figura 3); este mecanismo de control de la estereogénesis se le conoce como la teoría de las dos "células". Además de la LH, FSH y prolactina, la secreción de estrógenos por el folículo está regulada por factores inhibitorios, entre los que destacan la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), la oxitocina, el factor de crecimiento epidermal, la vasopresina, los estrógenos y los corticoides suprarrenales; y factores estimulantes como la noradrenalina, la prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>) y VIP (Eisenberg y col., 1984; Hillensjö y col., 1982; Whates, 1984; Lino y col., 1985; Hsueh y col., 1983 en Domínguez y col., 1991).

En los mamíferos, la inervación adrenérgica del ovario llega por dos rutas separadas: 1) vía el plexo ovárico, que penetra por el hilio y corre a lo largo de la arteria ovárica. 2) por el nervio que recorre el ligamento suspensorio del ovario, llamado nervio ovárico superior. En el ovario de la mujer, gata y cobaya existe una densa red de nervios adrenérgicos, en la mona es moderada y en la rata y el conejo poco densa (Burden, 1978).

El estudio de la participación del sistema noradrenérgico en la regulación del proceso reproductivo en peces se ha enfocado tanto a su papel en el hipotálamo como a la inervación gonadal para ello se han utilizado métodos inmunohistoquímicos, de fluorescencia, así como estudios anatómicos (Yu y

Peter 1992a), los que sólo se han realizado en algunas especies como *Gasterosteus aculeatus* las cuales en su mayoría son marinas (Peter; 1986). En la Figura 4 se presentan los modelos propuestos de la inervación noradrenérgica gonadal en *Oreochromis niloticus*.

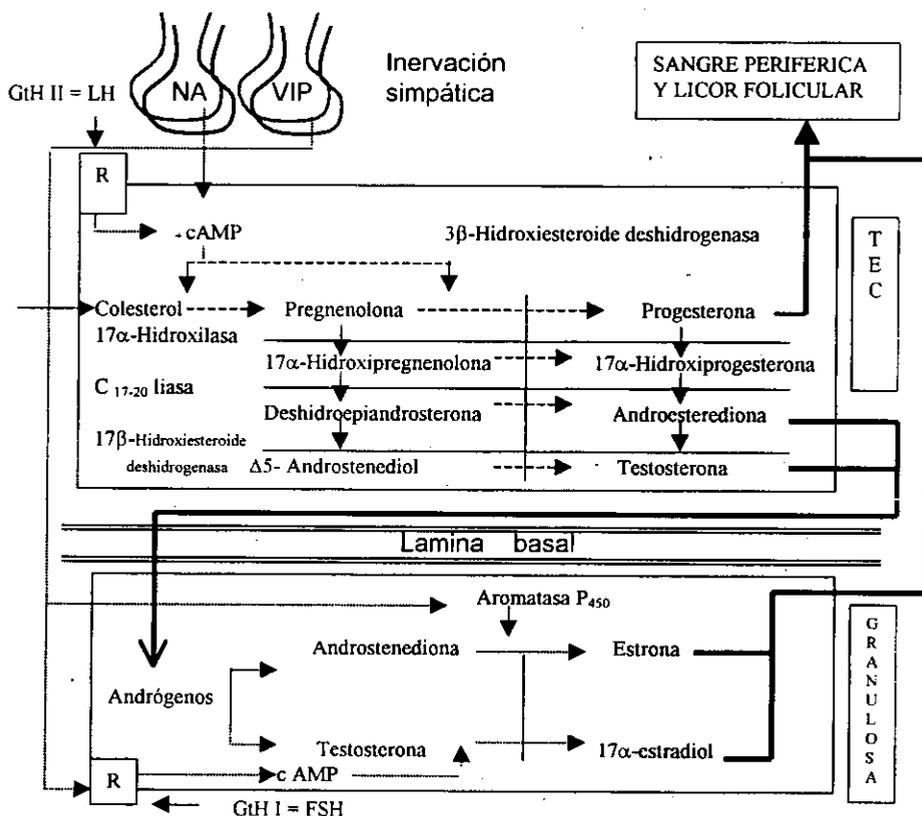
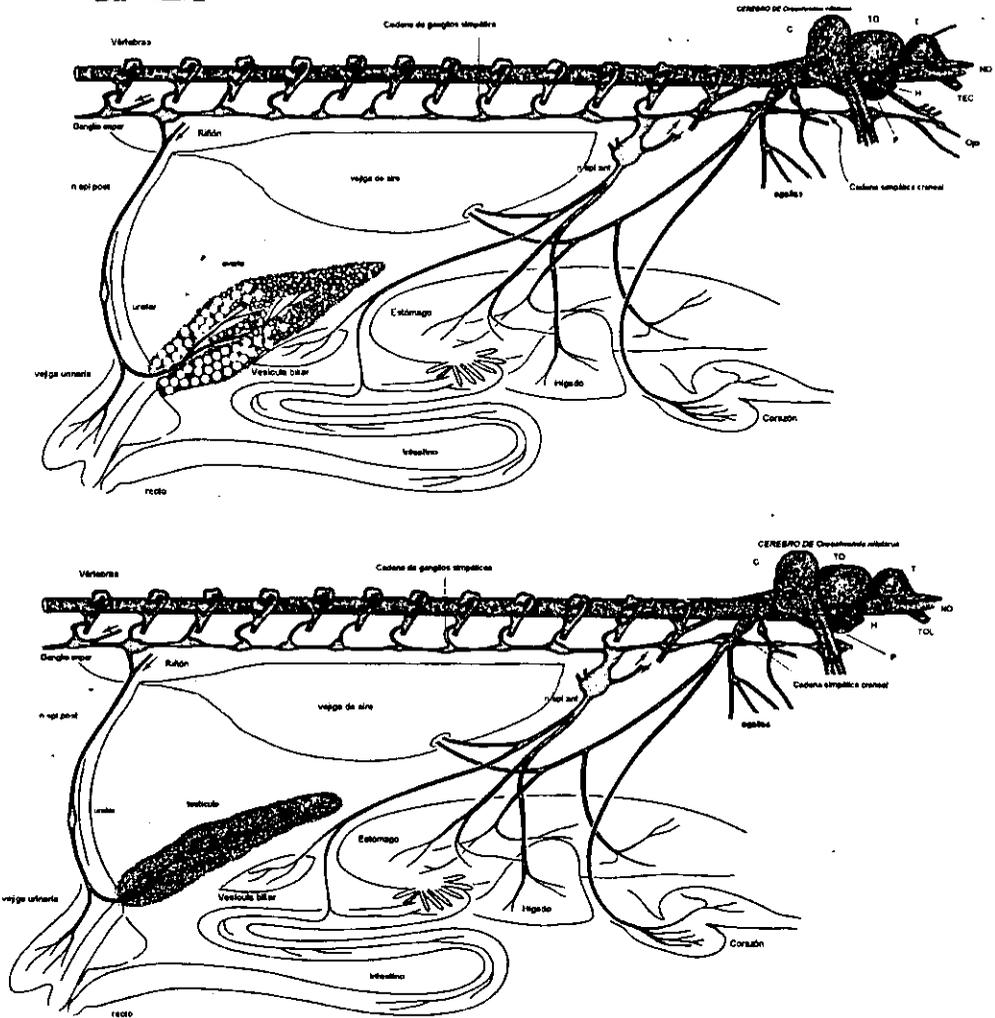
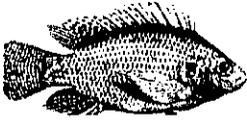


Figura 3. Teoría de las dos células en la biosíntesis de los estrógenos en las células del folículo ovárico. Tomado de Domínguez y col., 1991; Quiroz, 1999.



**Figura 4.** Modelos representativos de las conexiones del sistema central y periférico en *Oreochromis niloticus* (H= hipotálamo; P= hipófisis; NO= nervio óptico; T=telencéfalo; C= cerebelo; TOL=tracto olfatorio; TO=tectum óptico; n esp ant= nervio espláncmico anterior; n esp pos= nervio espláncmico anterior), tomados de Evans, 1993 y Mousa, 1999, modificados para *O. niloticus*.

En los peces, en particular en los teleósteos, la noradrenalina estimula la liberación de gonadotropinas (Chan, 1983), por sus efectos estimulantes sobre las neuronas secretoras de GnRH localizadas en el área preóptica anterior (POA), núcleo resus lateralis, núcleo resus posterior del hipotálamo (Joy, 1993) y por un menor efecto directo en los gonadotropos en la adenohipófisis (Chang y Mackenzie, 1984). Los efectos estimulantes de la noradrenalina en la secreción de gonadotropinas se observan durante la regresión sexual, pero no en la madurez sexual, lo que implica que los esteroides sexuales pueden afectar la liberación de gonadotropinas estimulada por la noradrenalina (Yu, Peter, 1992). Así mismo se ha mostrado que la noradrenalina inhibe la liberación de la hormona del crecimiento (GH) y que este efecto no varía con la temporada reproductiva (Chang y Vav Goor, 1984).

Existen pocos estudios cuantitativos de la síntesis y dinámica de las enzimas que producen a las catecolaminas en cerebro e hipotálamo de los peces teleósteos (dopamina  $\beta$ -hidroxilada (D $\beta$ H) y feniletanolamina-N-transferasa (PNMT)). La única información encontrada para esta revisión es un estudio de inmunocitoquímica cualitativa donde se analiza la distribución de estas enzimas llevado a cabo por Joy (1993), quien menciona que la D $\beta$ H se encuentra distribuida en las regiones basal y periventricular del hipotálamo y en el área preóptica. La distribución de PNMT varía según la especie estudiada (Sas y col., 1990).

En el *C. punctatus*, Khan y col. (1990) mostraron que tratamientos con fotoperíodos largos y altas temperaturas alteran las concentraciones de las catecolaminas. Este tratamiento estimula la síntesis de noradrenalina y adrenalina y disminuye la concentración de dopamina. Estos resultados se explican por el efecto estimulador de estas condiciones experimentales sobre la actividad de la D $\beta$ H y la PNMT, enzimas que participan en la síntesis de noradrenalina y adrenalina. Esta información puede extrapolarse para explicar el patrón temporal

de la síntesis de las catecolaminas en el pez dorado. En la época de invierno, cuando el fotoperiodo es corto y la temperatura baja, en el hipotálamo predomina la síntesis de dopamina. Con el incremento del fotoperiodo y la temperatura durante el progreso de la temporada reproductora primavera-verano, la dopamina es transformada en noradrenalina.

En el pez gato la maduración empieza después del invierno, con el aumento de la temperatura y de las horas luz. El efecto estimulante de la temperatura y el fotoperiodo en la secreción de la GtH puede estar mediado por la transformación de la dopamina en noradrenalina durante esta etapa del ciclo reproductivo. Los cambios en la temperatura producen modificaciones en las concentraciones de las catecolaminas y en la actividad enzimática D $\beta$ H y la PNMT (Senthilkumaran, Joy 1995).

En el pez gato y en otras especies subtropicales, al incrementarse el proceso de maduración de las gónadas, la concentración de DA disminuye y aumenta la de NA en el hipotálamo (Khan, Joy, 1990).

## DIAGNOSIS DE LA ESPECIE *Oreochromis niloticus*

Los peces de la familia Cichlidae tienen forma oblonga, con largas aletas dorsales de 23 a 31 espinas y radios. La nariz cuenta con un nustrilo en cada lado. La familia cuenta con cerca de 700 especies (Fryer y Iles, 1972), que se encuentran distribuidas en Africa, América Central, México, al Norte y mitad de Sur América, parte de India y Ceilán (Secretaría de Pesca, 1986; Hernández, Benítez, 1988). Son peces que soportan variaciones en la temperatura de hasta 10 °C.

Dada la gran diversidad de especies en el grupo de la tilapia, su clasificación taxonómica resulta compleja, por lo que se ha dividido al grupo en cuatro géneros basados en su origen, morfología, hábitos alimenticios y reproductivos: *Tilapia*, *Sarotherodon*, *Oreochromis* y *Dankilia* (Arredondo y Guzmán, 1985).

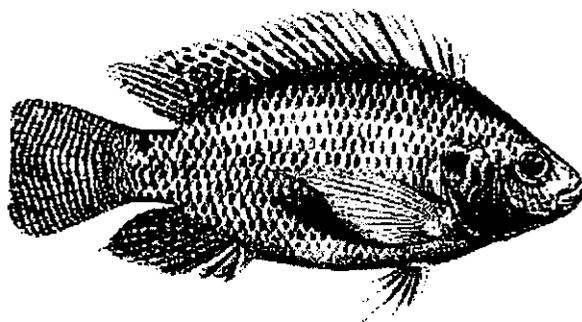


Figura 5. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)

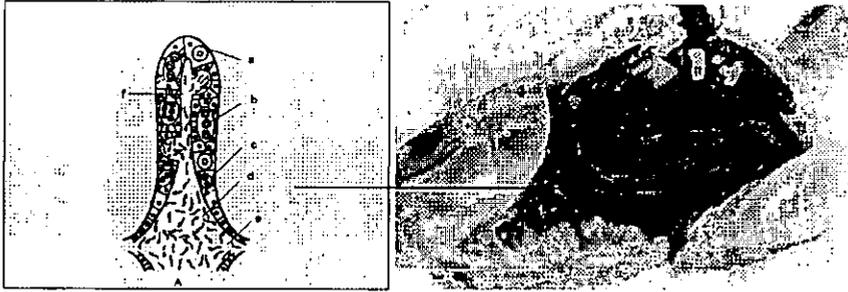
## POSICIÓN TAXONÓMICA DE *Oreochromis niloticus*

|               |   |
|---------------|---|
| División III: | Euteleostei                                 |
| Supér orden:  | Acanthopterygii                             |
| Orden :       | Peciformes                                  |
| Sub orden :   | Percaideo                                   |
| Familia .     | Cichlidae                                   |
| Género :      | <u><i>Oreochromis</i></u>                   |
| Especie :     | <u><i>O. niloticus</i></u> (Linnaeus, 1757) |

(Trewavas, 1973)

### Características del género *Oreochromis* presente en México, (Trewavas, 1973 en Arredondo, Guzmán , 1985)

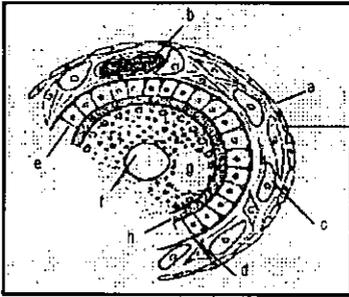
1. Hábitos alimenticios preferentemente planctófagos.
2. Entre 14 y 29 branquiespinas en la parte inferior del primer arco branquial.
3. La especie tiene un período prenupcial corto.
4. El macho desarrolla una coloración muy marcada en la época de reproducción y fija su territorio.
5. El macho es polígamo y usa el nido para el cortejo y fertilización de los ovocitos.
6. En la tilapia macho, los testículos son de tipo lobular (Figura 6), los lóbulos están separados entre sí por una delgada capa de tejido conectivo fibroso. Dentro de los lóbulos la espermatogonia primaria sufre numerosas divisiones mitóticas hasta producir cistos que contienen varias células germinales que están aproximadamente en el mismo estadio de desarrollo.



**Figura 6.** Estructura testicular en teleósteos A tipo lobular y B tipo tubular, (a) espermatogonias; (b) espermatocitos; (c) espermatídes; (d) espermatozoides; (e) conductos espermáticos; (f) lumen lobular (Nagama, 1983).

7. En sus primeras etapas, la espermatogonia se presenta como una célula grande con forma ovoide con núcleo grande y redondo. Posteriormente, después del estadio de proliferación, la espermatogonia se convierte en espermatocito primario una célula mas pequeña y redonda. A continuación pasará por los estadios de meiosis y la primera división de maduración dando como resultado el espermatocito secundario, para más adelante realizar la segunda división meiótica, originando la espermatίδα. La espermatίδα ya no sufre división celular, sólo el proceso de maduración, convirtiéndose en espermatozoide con cabeza, parte intermedia y flagelo. Cuando se dá la espermatogénesis y la espermiogénesis, los cistos se expanden y rompen liberando el esperma dentro del lumen lobular (Nagama, 1983).
8. Sus nidos asemejan cráteres circulares, ligeramente más grandes que la longitud de la hembra.
9. En las hembras, los ovarios presentan las ovogonias embebidas en el estroma ovárico (tejido de soporte) (Figura 7) (Benítez, 1991). Durante el proceso de desarrollo las células de la granulosa proveen de proteínas y grasa al ovocito, que las conservará en forma de yema granular y utilizará como alimento en las etapas posteriores a la fecundación hasta que el pez pueda capturar su alimento (Lagler, 1981).

A



B



**Figura 7.** A) Estructura del folículo ovárico de teleosteos (a) fibroblastos; (b) vasos sanguíneos; (c) células tecales; (d) membrana basal; (e) células de la granulosa; (f) vesícula germinal; (g) citoplasma; (h) corona radiada (Nagama, 1983). B) posición de las gónadas en la tilapia *Oreochromis niloticus*.

10. La tilapia presenta un desarrollo folicular asincrónico, donde el ovario contiene ovocitos en todas las etapas de desarrollo (Redding y Patiño, 1993).
11. Los ovocitos son de color amarillo naranja (2.2 a 3 mm de diámetro) y no presentan una cubierta adhesiva externa.
12. La tilapia libera menos de 700 óvulos en cada desove.
13. Las hembras incuban los huevos y protegen a los alevines guardándolos en la boca por 20 ó 30 días.
14. La sobrevivencia total de las crías es del 90% bajo el cuidado de la madre.
15. La tilapia posee un tipo de reproducción dioica, o sea, que los espermatozoides y los óvulos se desarrollan en individuos separados.
16. En la tilapia la diferenciación de las gónadas ocurre en etapas tempranas del desarrollo entre los 16 y 30 días de edad (Jalabert, 1982), (tomando como referencia el día en que dejo de ser alevín).
17. Las tilapias alcanzan su madurez sexual a partir de los tres meses de edad. La frecuencia de desoves varía dependiendo de los factores ambientales, pudiendo ser desde 6 hasta 16 veces al año. En México se han observado hasta 10 desoves del mismo individuo en un año.

## Características de la Guanetidina (GTD)

Su estructura química es un anillo no aromático, nitrogenado con dos puentes de carbono (C) que los separa de un grupo guanidinium no sustituido (Figura 7.1).

En los mamíferos, la GTD bloquea las neuronas noradrenérgicas periféricas, pero no atraviesa la barrera hematoencefálica por lo que no afecta la función cerebral. Inicialmente provoca una disociación entre el potencial de acción y la descarga de NA en la terminal nerviosa. Se acumula activamente en las neuronas simpáticas periféricas por los mecanismos de captación de catecolaminas produciendo la descarga de la NA endógena desde las terminales. Tiene la capacidad de bloquear la captación y liberación de NA la que se manifiesta en la reducción de la concentración del neurotransmisor. Es rápidamente transportada a sus sitios de acción intraneuronal a partir del cual es eliminada. Su vida media es de cinco días. Aproximadamente el 50% de la droga es metabolizada y el otro 50% es eliminada sin cambios por la orina. Por la larga vida media del fármaco, las dosis puede acumularse durante dos semanas. Esencialmente, todos los efectos de la guanetidina se deben al bloqueo simpático (Woosley y Nies, 1976 en Goodman, Gilman 1991).

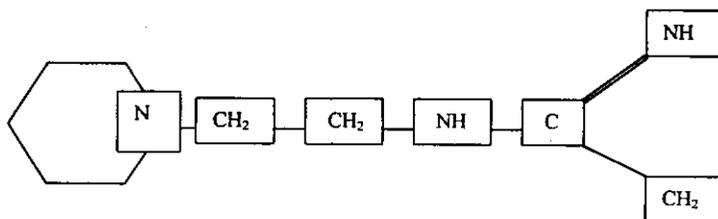


Figura 7.1 Estructura de la guanetidina, tomada de Goodman, Gilman 1991

### **Características de la hormona coriónica humana (hCG)**

La hormona coriónica humana es una hormona glucoproteica compuesta por dos subunidades, la  $\alpha$  compuesta por 92 aminoácidos y la  $\beta$  cual varía de tamaño de 102 a 145 aminoácidos y fue descubierta en la década de los 80 (Steven y col.). Se produce en la placenta 15 días después de la fecundación, se encuentra en la sangre y la orina de la mujer preñada y actúa como la LH (Turner, 1966). En las etapas tempranas de la gestación, mantiene la función del cuerpo luteo y estimula la secreción de esteroides. En mamíferos, los estudios han demostrado que sus efectos varían según la dosis empleada (Merck Index, 1996).

### **Planteamiento del problema.**

Es escaso el conocimiento de los efectos de la noradrenalina del sistema nervioso central y periférico sobre el crecimiento y la maduración de las gónadas de los peces, tanto de agua dulce como marinos. Debido a ello, en este estudio se trabajó con *Oreochromis niloticus* mantenidos a diferentes temperaturas y se analizó si el sistema noradrenérgico periférico modula la función de crecimiento y maduración de las gónadas, por medio de los efectos producidos por la desnervación noradrenérgica periférica con el fármaco guanetidina. Además se evaluó la estimulación de la hormona coriónica humana (hCG que actúa como la LH) en peces desnervados con el fin de observar sus efectos en el crecimiento y la maduración en las gónadas.

## **HIPÓTESIS**

Si el sistema noradrenérgico periférico modula el crecimiento y la maduración de las gónadas, al desnervar las vías catecolaminérgicas periféricas con el fármaco guanetidina, esta función se verá afectada debido a que la temperatura es un factor fundamental en la regulación del desarrollo gonadal, los efectos de la desnervación variarán en función de la temperatura a la que se mantengan los peces.

## **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar la modulación que el sistema noradrenérgico periférico ejerce sobre el crecimiento y la maduración gonadal de ambos sexos de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*, por medio de la desnervación con guanetidina en animales mantenidos en diferentes temperaturas (25 y 30 °C).

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

Analizar los efectos del bloqueo del sistema noradrenérgico periférico provocado por la inyección de guanetidina, sobre el crecimiento y la maduración gonadal en ambos sexos de la tilapia *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad (adultos), Mantenidos a dos temperaturas constantes de 25 y 30°C

Analizar los efectos de la hCG en machos y hembras de tilapia de 90 días de edad con desnervación periférica producida por la inyección de GTD, sobre el crecimiento y la maduración gonadal, Mantenidos a dos temperaturas constantes de 25 y 30°C.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

### MÉTODOS

Se utilizaron tilapias (*Oreochromis niloticus*) de aproximadamente 20 días de edad nacidas en primavera y otoño en la piscifactoría Zacatepec localizada en el municipio de Zacatepec de Hidalgo, Estado de Morelos. Se ubica a los 99° 11' latitud Norte, 18° 41' longitud Oeste a una altitud de 1000 m.s.n.m (S.P.P., 1981). El tipo de clima de acuerdo a la clasificación climática de Köppen modificada por García (1973) es Aw'' (w) (i') g, cálido subhúmedo con lluvias en verano y canícula, con marcha de temperaturas tipo ganges y un porcentaje de lluvia invernal menor a 5 mm. La precipitación media anual fluctúa entre los 800 y 1000 mm y la temperatura media anual es de 24 a 26 °C. La temperatura más alta se presenta en mayo y es de 32 a 33° C, y la más baja se registra en diciembre y enero con valores 20 a 21° C.(S.P.P, 1981).

Los animales fueron colocados para su aclimatación en acuarios de vidrio con dimensiones de 48 x 25 x 23 cm con una capacidad de 27 litros, a temperatura constante de 25 ó 30 °C, con sistema de bombeo continuo de aire y alimento para trucha con 50 % en proteína, al 6% diario de la biomasa. Los peces se mantuvieron en estas condiciones hasta que cumplieron 90 días de edad. Para cada experimento se colocaron 8 peces por acuario procurando que la proporción de sexos se mantuviera en 50 %, bajo fotoperíodo de 12 horas luz, (luces encendidas de las 8:00 a las 20:00 hrs.).

Al inicio y final del experimento se tomaron las siguientes medidas de los organismos: Longitud patrón, con un ictiómetro y peso corporal en una balanza analítica.

## PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA.

A los peces se les sacrificó por decapitación, se extrajo el cerebro y se disecó el hipotálamo, el cual se congeló a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta la posterior cuantificación de noradrenalina y su metabolito por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Al mismo tiempo se extrajeron y pesaron las gónadas con lo que se calculó el índice Gonadosomático (IGS) (Rodríguez, 1992).

$$\text{IGS} = \frac{\text{Peso de gónada}}{\text{Peso del pez}} \times 100$$

## PROCEDIMIENTO DE CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.

El equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) consistió de una bomba (Perkim Elmer, modelo 250), una válvula de inyección Rheodine (Perkim Elmer, modelo 7125), columna Biofase ODS C-18 analítica (25 cm x 4.6, 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula) y un detector amperométrico BAS LC-4A (Bioanalytical Systems, Inc) con un doble electrodo, uno de trabajo de carbón vítreo a un potencial de 850 mV y un electrodo de referencia de Ag/AgCl (Dominguez y Col., 1998); Bioanalytical Systems, Inc., West Lafayette, IN, USA).

La fase móvil fue preparada con agua químicamente pura (10  $\text{M}\Omega\text{ cm}$ ), y consistió de un buffer de ácido cítrico 0.1 M ajustado a  $\text{pH} = 3.0$ , con 100 mg de ácido 1-octano-sulfónico monohidratado (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). El buffer se filtró y desgasificó con una bomba de vacío por una hora. Inmediatamente se adicionaron 20 ml de acetonitrilo y 15 ml de tetrahidrofurano para cromatografía (E. Merck, Darmstadt, Germany).

La fase móvil fue bombeada a un flujo constante de 1.0 ml/minuto. Las soluciones estándar (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) fueron preparadas y diluidas

el día del experimento usando ácido perclórico 0.1 N. La calibración del equipo fue hecha para producir una curva estándar sobre un intervalo de 0.1 ng a 2 ng/ $\mu$ l de inyección. Noradrenalina y MHPG fueron identificados con sus tiempos relativos de retención y comparándolos con sus respectivos estándares usando un integrador Nelson Perkim Elmer 1020. Los resultados fueron expresados en ng de neurotransmisor/mg de tejido (Ayala y Col., 1998). La actividad de la neurona noradrenérgica (siendo sus unidades adimensionales) fue calculada siguiendo la relación descrita por Shannon y col. (1986) y Kerdelhué col. (1989).

Las muestras de hipotálamo fueron pesadas en una balanza de precisión (0.1/0.01 mg) y homogeneizadas en 150  $\mu$ l de ácido perclórico 0.1 N y centrifugadas a 12,000 rpm, a -4°C por 30 minutos y el supernadante fue filtrado usando un filtro de celulosa regenerado de 0.2  $\mu$ m. Veinte  $\mu$ l de este extracto fue inyectado por una válvula Rheodine conectada a la columna cromatográfica.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Experimento 1. Evaluar el efecto de la desnervación noradrenérgica periférica al inicio de la etapa de maduración (90 días) de *Oreochromis niloticus* machos y hembras sobre el crecimiento y la maduración gonadal mantenidos a temperaturas de 25 y 30 °C.

Para ello, dos grupos de 24 peces (hembras y machos combinados) mantenidos en peceras a 25 y 30 °C fueron inyectados por vía intramuscular cada tercer día con 0.1 ml de solución salina o con 20 mg / kg de guanetidina, por un periodo de 30 días. Así mismo se mantuvo un grupo testigo sin tratamiento. Al término del experimento se procedió como se menciona en el procedimiento de autopsia.

Experimento 2. En función de los resultados obtenidos se estudió la respuesta de las gónadas a la estimulación con hCG en peces con desnervación simpática periférica.

Para ello grupos de animales mantenidos a 25 o 30 °C de temperatura fueron inyectados por vía intramuscular cada tercer día con 0.1 ml de solución salina o con 50 UI de hormona corionica humana (hCG) cada 72 horas por 30 días o con Guanetidina (20 mg/kg de peso) cada tercer día y durante 20 días posteriormente con 50 UI de hormona coriónica humana (hCG) cada 72 horas durante 10 días. Así mismo se mantuvo un grupo testigo sin tratamiento. Al término del experimento se procedió como se menciona en el procedimiento de autopsia.

#### **EVALUACION DE LOS RESULTADOS.**

Los resultados de longitud patrón, peso corporal total, peso de las gónadas (ovarios y testículos), índice gonadosomático y concentración de las monoaminas fueron sometidos a pruebas de análisis de varianza de una vía ( $P < 0.05$ ), además se utilizó la prueba de Tukey y la de rangos múltiples para las medias de los tratamientos cuando se presentaron diferencias ( $P < 0.05$ ). En las tablas y gráficas se muestra el valor promedio  $\pm$  error estándar de la media.

## EXPERIMENTO 1. Efectos de la inyección intramuscular de GTD a peces mantenidos en condiciones de temperatura controlada a 25 y 30 °C

Objetivo: Analizar los efectos del bloqueo del sistema simpático periférico provocado por la inyección de guanetidina, sobre en el crecimiento y la maduración gonadal de la tilapia *Oreochromis niloticus* de ambos sexos sexualmente maduros.

### RESULTADOS

Efectos de la inyección de guanetidina, realizada al inicio de la etapa de maduración en *Oreochromis niloticus* hembras mantenidas a temperatura de 25°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal.

Tabla 1. Media  $\pm$  e.e.m. de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosómico en hembras de *Oreochromis niloticus* a una edad de 90 días mantenidos a 25°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>OVARIOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| TESTIGO             | 15 | 7.12 $\pm$ 0.18            | 12.82 $\pm$ 0.81        | 0.47 $\pm$ 0.05           | 3.70 $\pm$ 0.49                   |
| SALINA              | 18 | 6.81 $\pm$ 0.20            | 10.76 $\pm$ 0.91        | 0.36 $\pm$ 0.07           | 3.34 $\pm$ 0.60                   |
| GTD<br>(20mg/kg)    | 20 | 6.80 $\pm$ 0.15            | 9.66 $\pm$ 0.55*        | 0.27 $\pm$ 0.06*          | 2.79 $\pm$ 0.60                   |

\*  $p < 0.05$  vs testigo

En la Tabla 1 se muestran los efectos de la inyección de GTD sobre el crecimiento y maduración de las hembras de *Oreochromis niloticus* sometidas a temperatura de 25 °C, en comparación con los grupos testigo y el inyectado con solución salina. No se observaron diferencias significativas entre el grupo testigo y el salino. La desnervación simpática periférica provocó menor crecimiento corporal y maduración (peso de gónadas).

**Efectos de la inyección de guanetidina, realizada al inicio de la etapa de maduración en *Oreochromis niloticus* hembras mantenidas a temperatura de 30°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal.**

**Tabla 2.** Media  $\pm$  e.e.m. de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosómico en hembras de *Oreochromis niloticus* de 90 días mantenidos a 30°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>30°C | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>OVARIOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSÓMÁTICO<br>(IGS) |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| TESTIGO             | 25 | 6.90 $\pm$ 0.35            | 12.47 $\pm$ 1.71        | 0.32 $\pm$ 0.08           | 2.57 $\pm$ 0.44                   |
| SALINA              | 18 | 7.29 $\pm$ 0.37            | 13.19 $\pm$ 2.25        | 0.39 $\pm$ 0.13           | 2.96 $\pm$ 0.62                   |
| GTD<br>(20mg/kg)    | 25 | 7.86 $\pm$ 0.32            | 14.66 $\pm$ 1.57        | 0.50 $\pm$ 0.09           | 3.41 $\pm$ 0.40                   |

La desnervación simpática periférica producida por la inyección de guanetidina no modificó los parámetros ponderales ni del crecimiento gonadal de las hembras mantenidas a 30 °C.

El peso corporal y gonadal de las hembras desnervadas mantenidas a 30 °C, fue significativamente mayor que el observado en las mantenidas a 25 °C (Tablas 1 y 2).

**Efectos de la inyección de guanetidina, realizada al inicio de la etapa de maduración en *Oreochromis niloticus* machos mantenidos a temperatura de 25°C sobre el crecimiento y la maduración gonadal.**

**Tabla 3.** Media  $\pm$  e.e.m. de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosómico en machos de *Oreochromis niloticus* de 90 días mantenidos a 25°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>TESTÍCULOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| TESTIGO             | 30 | 6.95 $\pm$ 0.19            | 11.42 $\pm$ 0.76        | 0.05 $\pm$ 0.01              | 0.43 $\pm$ 0.10                   |
| SALINA              | 29 | 7.00 $\pm$ 0.20            | 11.60 $\pm$ 0.91        | 0.06 $\pm$ 0.01              | 0.51 $\pm$ 0.11                   |
| GTD<br>(20mg/kg)    | 21 | 7.02 $\pm$ 0.26            | 11.84 $\pm$ 1.45        | 0.04 $\pm$ 0.01              | 0.33 $\pm$ 0.05                   |

No se presentaron diferencias significativas entre los valores de los grupos testigo, salina y desnervados (Tabla 3).

**Efectos de la inyección de guanetidina realizada, al inicio de la etapa de maduración en *Oreochromis niloticus* machos mantenidos a temperatura de 30°C sobre el crecimiento y la maduración gonadal.**

**Tabla 4.** Media  $\pm$  e.e.m. de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosómico en machos de *Oreochromis niloticus* de 90 días mantenidos a 30°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>30°C | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>TESTÍCULOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| TESTIGO             | 38 | 7.42 $\pm$ 0.29            | 15.52 $\pm$ 1.81        | 0.06 $\pm$ 0.01              | 0.39 $\pm$ 0.06                   |
| SALINA              | 27 | 7.51 $\pm$ 0.24            | 14.95 $\pm$ 1.54        | 0.08 $\pm$ 0.01              | 0.53 $\pm$ 0.05                   |
| GTD<br>(20mg/kg)    | 20 | 8.21 $\pm$ 0.37            | 16.94 $\pm$ 2.17        | 0.11 $\pm$ 0.03              | 0.65 $\pm$ 0.08                   |

Al igual que en los animales mantenidos a 25°C, la desnervación simpática periférica no afectó el crecimiento ni la maduración de las tilapias macho (Tabla 4)

Comparación de los efectos de la inyección de guanetidina, realizada al inicio de la etapa de maduración de *Oreochromis niloticus* hembras y machos mantenidos a temperatura de 25 °C, sobre el crecimiento.

Tabla 5. Media  $\pm$  e.e.m. de la longitud patrón, el peso corporal en hembras (♀) y machos (♂) de *Oreochromis niloticus* de 90 días mantenidos a 25°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C | N  | LONGITUD PATRÓN<br>(cm) | PESO CORPORAL<br>(g) |
|---------------------|----|-------------------------|----------------------|
| TESTIGO ♀           | 15 | 7.12 $\pm$ 0.18         | 12.82 $\pm$ 0.81     |
| TESTIGO ♂           | 30 | 6.95 $\pm$ 0.19         | 11.42 $\pm$ 0.76     |
| SALINA ♀            | 18 | 6.81 $\pm$ 0.20         | 10.76 $\pm$ 0.94     |
| SALINA ♂            | 29 | 7.00 $\pm$ 0.20         | 11.60 $\pm$ 0.91     |
| GTD ♀<br>(20mg/kg)  | 20 | 6.80 $\pm$ 0.15         | 9.66 $\pm$ 0.55* **  |
| GTD ♂<br>(20mg/kg)  | 21 | 7.02 $\pm$ 0.26         | 11.84 $\pm$ 1.45     |

\* p<0.05 vs sexo del mismo tratamiento    \*\* p<0.05 vs testigo ♀

En la Tabla 5 se observan los efectos de la inyección de GTD sobre el crecimiento de hembras y machos de *Oreochromis niloticus* mantenidos a 25°C de temperatura. No se observaron diferencias significativas entre hembras y machos testigo y tratados con solución salina. La desnervación periférica provocada por la inyección de guanetidina afectó de manera inhibitoria el crecimiento de las hembras, y no afectó el de los machos.

Comparación de los efectos de la inyección de guanetidina, realizada al inicio de la etapa de maduración de *Oreochromis niloticus* hembras y machos sometidos a temperatura de 30 °C, sobre el crecimiento.

Tabla 6. Media  $\pm$  e.e.m. de longitud patrón; peso corporal en hembras (♀) y machos (♂) de *Oreochromis niloticus* de 90 días mantenidos a 30°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>30°C | N  | LONGITUD PATRÓN<br>(cm) | PESO CORPORAL<br>(g) |
|---------------------|----|-------------------------|----------------------|
| TESTIGO ♀           | 25 | 6.90 $\pm$ 0.35         | 12.47 $\pm$ 1.71     |
| TESTIGO ♂           | 38 | 7.42 $\pm$ 0.29         | 15.52 $\pm$ 1.81     |
| SALINA ♀            | 18 | 7.29 $\pm$ 0.37         | 13.19 $\pm$ 2.25     |
| SALINA ♂            | 27 | 7.51 $\pm$ 0.24         | 14.95 $\pm$ 1.54     |
| GTD ♀<br>(20mg/kg)  | 25 | 7.86 $\pm$ 0.32         | 14.66 $\pm$ 1.57     |
| GTD ♂<br>(20mg/kg)  | 20 | 8.21 $\pm$ 0.37         | 16.94 $\pm$ 2.17     |

En la Tabla 6 se comparan los efectos de la inyección de GTD sobre el crecimiento de las hembras y machos de *Oreochromis niloticus* mantenidas a 30°C. No se observaron diferencias significativas en el crecimiento entre sexos de los diferentes grupos testigo y tratados.

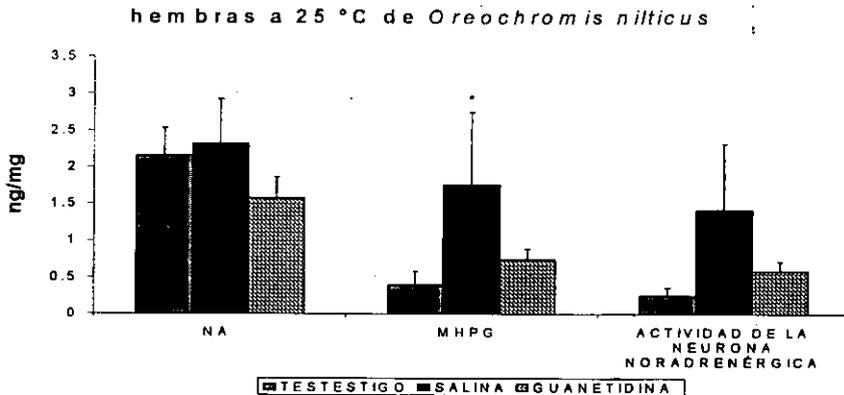
## CUANTIFICACIÓN DE CATECOLAMINAS.

Objetivo: Conocer la concentración de noradrenalina y 4-Hidroxi-3-Metoxifeniletilenglicol (MHPG) y la actividad neural noradrenérgica, para establecer si la GTD atraviesa la barrera hematoencefálica de *Oreochromis niloticus* y si influye en su concentración.

Para este fin peces de los diferentes grupos (testigo, salina y desnervados con GTD), de 120 días de edad, mantenidos a 25 y 30 °C se les diseccionó el hipotálamo para cuantificar la concentración de NA y MHPG.

### HEMBRAS.

La desnervación simpática periférica no modificó la concentración de noradrenalina en el hipotálamo de los peces mantenidos a temperatura de 25 °C. La concentración de su metabolito (MHPG), en los hipotálamos de los peces a los que se les inyectó solución salina fue significativamente mayor que en el grupo testigo absoluto y el desnervado. Esta diferencia no se vio reflejada en el cálculo de la actividad neural noradrenérgica (Figura 8).



- $P < 0,05$  vs tratamientos

FIGURA 8. Concentración de NA y MHPG y actividad noradrenérgica neuronal en el hipotálamo de *Oreochromis niloticus* hembras, mantenidas a 25°C.

Las inyecciones de solución salina o GTD no modificaron la concentración de NA de los animales mantenidos a 30°C (Figura 9).

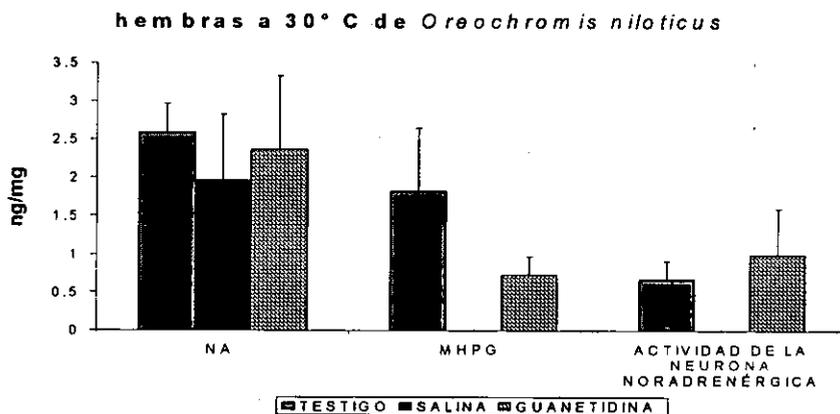


FIGURA 9. Concentración de NA y MHPG y actividad noradrenérgica neuronal en el hipotálamo de *Oreochromis niloticus* hembras, mantenidas a 30°C.

#### MACHOS.

La inyección de GTD no modificó la concentración de noradrenalina ni la actividad neuronal noradrenérgica en el hipotálamo de los machos mantenidos a 25 °C (Figura 10), y de los mantenidos a 30°C (Figura 11).

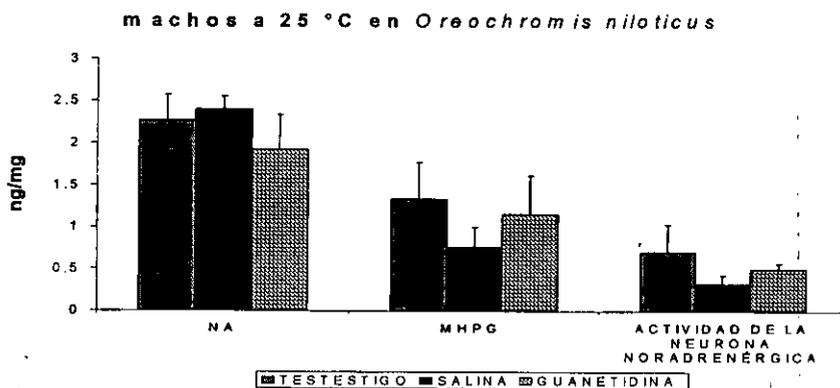
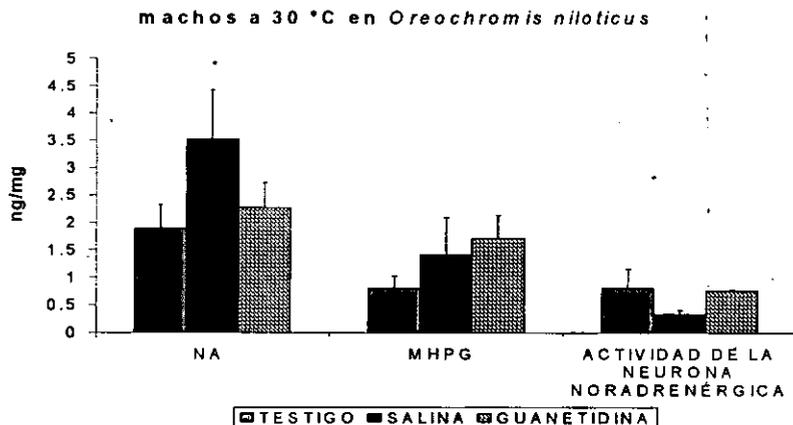


FIGURA 10. Concentración de NA y MHPG y actividad noradrenérgica neuronal en el hipotálamo de *Oreochromis niloticus* machos, mantenidas a 25°C.

Cuando los peces se mantuvieron a 30° se observó un aumento en la concentración de noradrenalina en el hipotálamo de los animales inyectados con solución salina, no siendo así en la concentración de su metabolito, el MHPG y la actividad neuronal (Figura 11).



•  $P < 0.05$  vs testigo

**FIGURA 11.** Concentración de NA y MHPG y actividad noradrenérgica neuronal en el hipotálamo de *Oreochromis niloticus* machos, mantenidas a 30°C.

**COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE NA, MHPG Y DE LA ACTIVIDAD NEURAL NORADRENÉRGICA EN EL HIPOTÁLAMO DE HEMBRAS Y MACHOS MANTENIDOS A 25 °C.**

No se observaron cambios significativos en la concentración de NA entre hembras y machos testigos y tratados con GTD mantenidos a 25°C. La concentración de MHPG fue superior en las hembras tratados con solución salina que en los machos que recibieron el mismo tratamiento. Esta diferencia se reflejó en la actividad neuronal. El tratamiento con GTD abolió los cambios inducidos por la inyección de solución salina (estrés inespecífico) (Figura 12).

hembras y machos a 25°C de *Oreochromis niloticus*

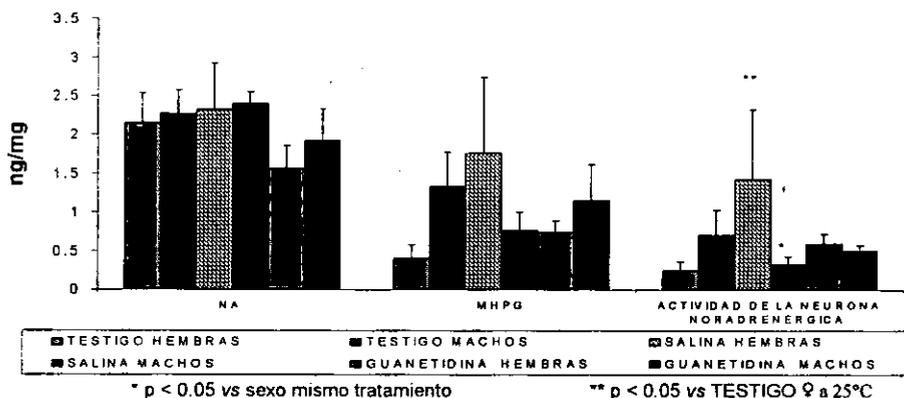


FIGURA 12. Concentración de NA y MHPG y actividad noradrenérgica neuronal en hipotálamo *Oreochromis niloticus* de hembras y machos mantenidas a 25°C.

COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE NA, MHPG Y DE LA ACTIVIDAD NEURAL NORADRENÉRICA, EN EL HIPOTÁLAMO DE HEMBRAS Y MACHOS MANTENIDOS A 30 °C.

No se observaron cambios significativos en la concentración de NA, MHPG y actividad neural entre hembras y machos testigos y tratados con GTD sometidos a 30°C. La administración de la solución salina en las hembras y machos no modifico las concentraciones de NA pero si las de MHPG, donde la concentración de las hembras estuvo por debajo de la sensibilidad del método. Esto se reflejo en la actividad neuronal (Figura 13).

hembras y machos a 30°C de *Oreochromis niloticus*

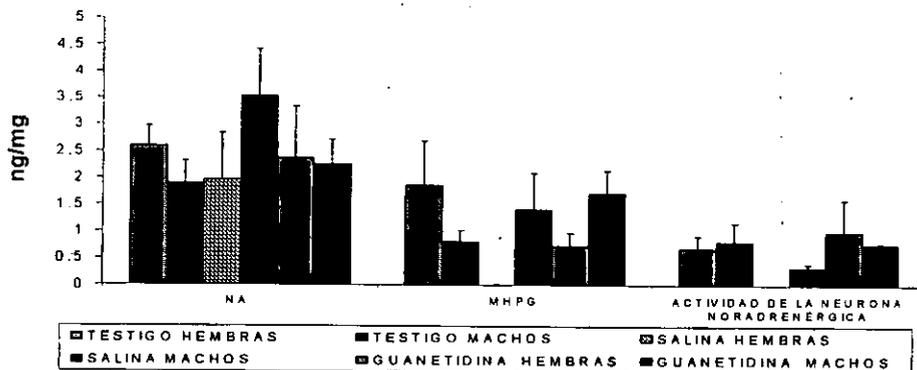


FIGURA 13. Concentración de NA, MHPG y actividad neuronal noradrenérgica en machos y hembras de *Oreochromis niloticus* (testigo absoluto y tratados con solución salina o GTD).

Los resultados obtenidos muestran que los efectos de la deservación simpática periférica sobre las hembras de *Oreochromis niloticus* dependen de la temperatura a la que se mantienen los animales lo que no sucede en los machos, por lo que podemos suponer que existe una diferencia sexual en la participación de este sistema en los mecanismos de regulación que está vinculado a la temperatura a la que se mantienen a los animales.

Al igual que lo descrito para los mamíferos, la GTD no parece atravesar la barrera hemato-encéflica ya que no se observaron diferencias significativas en la concentración de NA entre los animales deservados y el grupo testigo.

Dado que la deservación simpática periférica abolió los efectos producidos por la inyección de solución salina, se puede pensar que esta inervación participa en los mecanismos de estrés.

## EXPERIMENTO. 2

Objetivo: Analizar los efectos de la desnervación simpática periférica sobre la estimulación hormonal con hCG en el crecimiento y la maduración gonadal de ambos sexos de la tilapia *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad.

Para ello, cuatro grupos de 24 peces mantenidos a 25° y 30°C se les inyecta por vía intramuscular cada tercer día por 30 días, con:

- 0.1 ml de solución salina (1 grupo mantenido a 25°C, otro a 30°C)
- 50 U.I de hCG (1 grupo mantenido a 25°C, otro a 30°C)
- 20 mg/kg de GTD por 20 días + 50 U.I de hCG por 10 días (1 grupo mantenido a 25°C, otro a 30°C)
- testigos (1 grupo mantenido a 25°C, otro a 30°C).

## EFFECTOS DEL TRATAMIENTO CON hCG

### RESULTADOS

**Efectos del tratamiento de hCG realizada cada tercer día por 30 días desde el inicio de la etapa de maduración en *Oreochromis niloticus* hembras mantenidas a una temperatura de 25°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal.**

**Tabla 15.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosomático en hembras de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad mantenidas a 25°C a las que se les aplicó hCG durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>OVARIOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| TESTIGO             | 15 | 7.12 $\pm$ 0.18            | 12.82 $\pm$ 0.81        | 0.47 $\pm$ 0.06           | 3.70 $\pm$ 0.49                   |
| SALINA              | 18 | 6.81 $\pm$ 0.20            | 10.76 $\pm$ 0.94        | 0.36 $\pm$ 0.07           | 3.34 $\pm$ 0.60                   |
| hCG<br>(50 UI)      | 5  | 6.54 $\pm$ 0.23            | 8.76 $\pm$ 1.13*        | 0.14 $\pm$ 0.08*          | 1.59 $\pm$ 1.37                   |

\*  $p < 0.05$  vs testigo

El tratamiento con hCG provocó menor crecimiento en la longitud patrón (aunque no fue estadísticamente significativo) y en los pesos corporal y de los ovarios, en comparación con los animales testigo y tratados con solución salina, lo que se refleja en el índice gonadosomático.

**Efectos del tratamiento de hCG realizada cada tercer día por 30 días desde el inicio de la etapa de maduración en *Oreochromis niloticus* hembras mantenidas a una temperatura de 30°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal**

**Tabla 16.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosomático en hembras de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad mantenidas a 30°C a las que se les aplicó hCG durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>30°C | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>OVARIOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| TESTIGO             | 25 | 6.82 $\pm$ 0.35            | 12.47 $\pm$ 1.71        | 0.32 $\pm$ 0.08           | 2.57 $\pm$ 0.44                   |
| SALINA              | 18 | 7.29 $\pm$ 0.37            | 13.19 $\pm$ 2.25        | 0.39 $\pm$ 0.13           | 2.96 $\pm$ 0.62                   |
| hCG<br>(50 UI)      | 10 | 7.22 $\pm$ 0.13            | 11.84 $\pm$ 0.73        | 0.25 $\pm$ 0.04           | 2.11 $\pm$ 0.32                   |

Cuando los animales fueron mantenidos a 30°C la inyección de hCG no modificó los parámetros estudiados (Tabla 16).

**Efectos del tratamiento de hCG realizada cada 3<sup>er</sup> día por 30 días desde el inicio de la etapa de maduración en *Oreochromis niloticus* machos mantenidas a una temperatura de 25°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal**

**Tabla 17.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso, el peso de gónadas y el índice gonada en machos de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad mantenidos a 25°C a los que se les aplicó hCG durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>TESTÍCULOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| TESTIGO             | 30 | 6.95 $\pm$ 0.19            | 11.42 $\pm$ 0.76        | 0.05 $\pm$ 0.01              | 0.43 $\pm$ 0.10                   |
| SALINA              | 29 | 7.00 $\pm$ 0.20            | 11.60 $\pm$ 0.91        | 0.06 $\pm$ 0.01              | 0.51 $\pm$ 0.11                   |
| hCG<br>(50 UI)      | 14 | 8.54 $\pm$ 0.19*           | 19.64 $\pm$ 1.47*       | 0.13 $\pm$ 0.04*             | 0.66 $\pm$ 0.21                   |

\*  $p < 0.05$  vs tratamiento

El tratamiento de hCG a machos mantenidos a 25°C provocó aumento significativo del peso corporal y de las gónadas, por lo que el índice gonadosomático no se modificó respecto a los grupos testigo e inyectado con solución salina (Tabla 17).

**Efectos del tratamiento de hCG realizada cada 3<sup>er</sup> día por 30 días desde el inicio de la etapa de maduración en *Oreochromis niloticus* machos mantenidos a temperatura de 30°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal**

**Tabla 18.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosomático en machos de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad, mantenidos a 30°C a los que se les aplicó hCG durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>30°C | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>TESTÍCULOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|---------------------|----|----------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| TESTIGO             | 38 | 7.42 $\pm$ 0.29            | 15.52 $\pm$ 1.81        | 0.06 $\pm$ 0.01              | 0.39 $\pm$ 0.06                   |
| SALINA              | 27 | 7.51 $\pm$ 0.24            | 14.95 $\pm$ 1.54        | 0.08 $\pm$ 0.15              | 0.53 $\pm$ 0.05                   |
| hCG<br>(50 UI)      | 11 | 8.05 $\pm$ 0.28            | 17.60 $\pm$ 1.64        | 0.09 $\pm$ 0.03              | 0.51 $\pm$ 0.12                   |

El tratamiento con hCG a machos mantenidos a 30°C no modificó el crecimiento ponderal o peso gonadal (Tabla 18).

**Comparación de los efectos de la inyección de hCG realizada cada 3<sup>er</sup> día por 30 días desde el inicio de la etapa de maduración de *Oreochromis niloticus* hembras y machos mantenidos a temperatura de 25 °C, sobre el crecimiento.**

**Tabla 19.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal en hembras (♀) y machos (♂) de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad mantenidos a 25°C a los que se les aplicó hCG durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C | N  | LONGITUD PATRÓN<br>(cm) | PESO CORPORAL<br>(g) |
|---------------------|----|-------------------------|----------------------|
| TESTIGO ♀           | 15 | 7.12 $\pm$ 0.18         | 12.82 $\pm$ 0.81     |
| TESTIGO ♂           | 30 | 6.95 $\pm$ 0.19         | 11.42 $\pm$ 0.76     |
| SALINA ♀            | 18 | 6.81 $\pm$ 0.20         | 10.76 $\pm$ 0.94     |
| SALINA ♂            | 29 | 7.00 $\pm$ 0.20         | 11.60 $\pm$ 0.91     |
| hCG ♀<br>(50 UI)    | 5  | 6.54 $\pm$ 0.23         | 8.76 $\pm$ 1.13      |
| hCG ♂<br>(50 UI)    | 14 | 8.54 $\pm$ 0.19* **     | 19.64 $\pm$ 1.47* ** |

\* p<0.05 vs sexo del mismo tratamiento \*\* p<0.05 vs tratamientos

En la Tabla 19 se muestran los efectos del tratamiento con 50 UI de hCG sobre el crecimiento ponderal y en longitud de hembras y machos de *Oreochromis niloticus* mantenidos a una temperatura de 25°C, se observa que los machos respondieron al tratamiento hormonal con aumento de ambos parámetros, mientras que las hembras no respondieron al mismo.

**Comparación de los efectos de la inyección de hCG realizada cada 3<sup>er</sup> día por 30 días desde el inicio de la etapa de maduración de *Oreochromis niloticus* hembras y machos mantenidos a temperatura de 30°C, sobre el crecimiento.**

**Tabla 20.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal en hembras (♀) y machos (♂) de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad mantenidos a 30°C a los que se les aplicó hCG durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>30°C | N  | LONGITUD PATRON<br>(cm.) | PESO CORPORAL<br>(g) |
|---------------------|----|--------------------------|----------------------|
| TESTIGO ♀           | 25 | 6.90 $\pm$ 0.35          | 12.47 $\pm$ 1.71     |
| TESTIGO ♂           | 38 | 7.42 $\pm$ 0.29          | 15.52 $\pm$ 1.81     |
| SALINA ♀            | 18 | 7.29 $\pm$ 0.37          | 13.19 $\pm$ 2.25     |
| SALINA ♂            | 27 | 7.51 $\pm$ 0.24          | 14.95 $\pm$ 1.54     |
| hCG ♀<br>(50 UI)    | 10 | 7.22 $\pm$ 0.13          | 11.84 $\pm$ 0.73     |
| hCG ♂<br>(50 UI)    | 11 | 8.05 $\pm$ 0.28*         | 17.60 $\pm$ 1.64     |

\*  $p < 0.05$  vs TESTIGO ♀

El aumento de la temperatura a la que se mantuvieron los animales abolió los efectos producidos por de la inyección de hCG sobre el crecimiento ponderal de los machos, pero no sobre la longitud. La respuesta de las hembras en los parámetros estudiados no fue afectada por el tratamiento con hCG (Tabla 20).

Los ovocitos de las gónadas de las hembras de *Oreochromis niloticus* tratadas con hCG presentaron una sustancia lechosa y una apariencia en color muy distinta a la que se presenta en condiciones normales.

## RESULTADOS.

**Efectos de la deservación simpática periférica producida por la inyección de GTD sobre el estímulo gonadotrópico con hCG a *Oreochromis niloticus* hembras mantenidas a 25°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal.**

**Tabla 21.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosomático en hembras de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad sometidas a 25°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C        | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>OVARIOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|----------------------------|----|----------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| hCG<br>(50 UI)             | 5  | 6.54 $\pm$ 0.23            | 8.76 $\pm$ 1.13         | 0.14 $\pm$ 0.08           | 1.59 $\pm$ 1.37                   |
| GTD<br>(20mg/kg)           | 20 | 6.80 $\pm$ 0.15            | 9.66 $\pm$ 0.55         | 0.27 $\pm$ 0.06           | 2.79 $\pm$ 0.60                   |
| GTD+hCG<br>(20mg/kg+50 UI) | 9  | 7.28 $\pm$ 0.39            | 12.75 $\pm$ 1.73*       | 0.17 $\pm$ 0.04           | 1.33 $\pm$ 0.25                   |

\*  $p < 0.05$  vs hCG

El peso corporal de los animales desnervados tratados con hCG fue significativamente mayor que el de los animales tratados solo con hCG o GTD. Este aumento no se debió a cambios en el peso gonadal (Tabla 21).

**Inyección de GTD+hCG, a *Oreochromis niloticus* hembras sometidas a temperatura de 30°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal.**

**Tabla 22.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosomático en hembras de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad a 30°C, mantenidos en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>30°C         | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>OVARIOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|-----------------------------|----|----------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| hCG<br>(50 UI)              | 10 | 7.22 $\pm$ 0.13            | 11.84 $\pm$ 0.73        | 0.25 $\pm$ 0.04           | 2.11 $\pm$ 0.32                   |
| GTD<br>(20mg/kg)            | 25 | 7.86 $\pm$ 0.32            | 14.66 $\pm$ 1.57        | 0.50 $\pm$ 0.09           | 3.41 $\pm$ 0.40                   |
| GTD+hCG<br>(20mg/kg +50 UI) | 12 | 7.27 $\pm$ 0.21            | 12.35 $\pm$ 1.01        | 0.18 $\pm$ 0.03*          | 1.45 $\pm$ 0.30*                  |

\* p<0.05 vs GTD

La desnervación simpática y la estimulación gonadotrópica no afectaron el crecimiento ni en longitud ni el ponderal. Cuando se compararon los peso de los ovarios de los animales desnervados y los desnervados con estimulación gonadotrópica se observó un crecimiento gonadal significativamente menor (Tabla 22).

**Inyección de GTD + hCG, a *Oreochromis niloticus* machos mantenidos a temperatura de 25°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal.**

**Tabla 23.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosomático en machos de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad a 25 °C, mantenidos en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C        | N  | LONGITUD<br>PATRÓN<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>TESTICULOS<br>(g) | ÍNDICE<br>GONADOSOMÁTICO<br>(IGS) |
|----------------------------|----|----------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| hCG<br>(50 UI)             | 14 | 8.54 $\pm$ 0.19            | 19.64 $\pm$ 1.47        | 0.13 $\pm$ 0.04              | 0.66 $\pm$ 0.21                   |
| GTD<br>(20mg/kg)           | 21 | 7.02 $\pm$ 0.26*           | 11.84 $\pm$ 1.45*       | 0.04 $\pm$ 0.01*             | 0.33 $\pm$ 0.05*                  |
| GTD+hCG<br>(20mg/kg+50 UI) | 14 | 7.43 $\pm$ 0.30*           | 13.78 $\pm$ 1.30*       | 0.09 $\pm$ 0.02              | 0.65 $\pm$ 0.07                   |

\* p<0.05 vs hCG

Cuando los animales fueron mantenidos a 25°C, la estimulación gonadotrópica revirtió los efectos de la desnervación simpática sobre el peso gonadal y el índice gonadosomático (Tabla 23).

**Inyección de GTD + HCG, a *Oreochromis niloticus* machos sometidos a temperatura de 30°C, sobre el crecimiento y la maduración gonadal.**

**Tabla 24.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal, el peso de gónadas y el índice gonadosomático en machos de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad a 30°C, mantenidos en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>30°C        | N  | LONGITUD<br>PATRON<br>(cm) | PESO<br>CORPORAL<br>(g) | PESO DE<br>TESTICULOS<br>(g) | INDICE<br>GONADOSOMATICO<br>(IGS) |
|----------------------------|----|----------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| hCG<br>(50 UI)             | 11 | 8.05 $\pm$ 0.28            | 17.60 $\pm$ 1.64        | 0.09 $\pm$ 0.03              | 0.51 $\pm$ 0.12                   |
| GTD<br>(20mg/kg)           | 20 | 8.21 $\pm$ 0.37            | 16.94 $\pm$ 2.17        | 0.11 $\pm$ 0.03              | 0.65 $\pm$ 0.08                   |
| GTD+hCG<br>(20mg/kg+50 UI) | 14 | 8.37 $\pm$ 0.18            | 18.32 $\pm$ 1.32        | 0.12 $\pm$ 0.02              | 0.66 $\pm$ 0.11                   |

El tratamiento gonadotrópico a los animales desnervados no modificó los parámetros estudiados (Tabla 24).

**Comparación de los efectos de la inyección de GTD+hCG, realizada al inicio de la etapa de maduración de *Oreochromis niloticus* hembras y machos a temperatura de 25 °C, sobre el crecimiento.**

**Tabla 25.** Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal en hembras (♀) y machos (♂) de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad mantenidas a 25°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.

| TRATAMIENTO<br>25°C          | N  | LONGITUD PATRÓN<br>(cm) | PESO CORPORAL<br>(g) |
|------------------------------|----|-------------------------|----------------------|
| hCG ♀<br>(50 UI)             | 5  | 6.54 $\pm$ 0.23*        | 8.76 $\pm$ 1.13*     |
| hCG ♂<br>(50 UI)             | 14 | 8.54 $\pm$ 0.19 **      | 19.64 $\pm$ 1.47 **  |
| GTD ♀<br>(20mg/kg)           | 20 | 6.80 $\pm$ 0.15         | 9.66 $\pm$ 0.55*     |
| GTD ♂<br>(20mg/kg)           | 21 | 7.02 $\pm$ 0.26         | 11.84 $\pm$ 1.45     |
| GTD+hCG ♀<br>(20mg/kg+50 UI) | 9  | 7.28 $\pm$ 0.39         | 12.75 $\pm$ 1.73     |
| GTD+hCG ♂<br>(20mg/kg+50 UI) | 14 | 7.43 $\pm$ 0.30         | 13.78 $\pm$ 1.30     |

\* p<0.05 vs el sexo del mismo tratamiento \*\* p<0.05 vs tratamientos

En la Tabla 25 se muestran los efectos del tratamiento de GTD+hCG sobre el crecimiento de hembras y machos de *Oreochromis niloticus* sometidos a temperatura de 25°C. No se observaron diferencias significativas entre hembras y machos con GTD+hCG. La aplicación de hCG 50 UI y la desnervación periférica inhibió el crecimiento ponderal de las hembras pero no el de los machos.

**Comparación de los efectos del tratamiento de GTD+hCG, realizada al inicio de la etapa de maduración de *Oreochromis niloticus* hembras y machos a temperatura de 30 °C, sobre el crecimiento.**

**Tabla 26 . Media  $\pm$  e.e.m de la longitud patrón, el peso corporal en hembras (♀) y machos (♂) de *Oreochromis niloticus* de 90 días de edad mantenidos a 30°C, en diferentes tratamientos durante 30 días.**

| TRATAMIENTO<br>30°C           | N  | LONGITUD PATRON<br>(cm) | PESO CORPORAL<br>(g) |
|-------------------------------|----|-------------------------|----------------------|
| hCG ♀<br>(50 UI)              | 10 | 7.22 $\pm$ 0.13         | 11.84 $\pm$ 0.73     |
| hCG ♂<br>(50 UI)              | 11 | 8.05 $\pm$ 0.28         | 17.60 $\pm$ 1.64     |
| GTD ♀<br>(20mg/kg)            | 25 | 7.86 $\pm$ 0.32         | 14.66 $\pm$ 1.57     |
| GTD ♂<br>(20mg/kg)            | 20 | 8.21 $\pm$ 0.37***      | 16.94 $\pm$ 2.17     |
| GTD+hCG ♀<br>(20mg/kg +50 UI) | 12 | 7.27 $\pm$ 0.21**       | 12.35 $\pm$ 1.01     |
| GTD+hCG ♂<br>(20mg/kg+50 UI)  | 14 | 8.37 $\pm$ 0.18* ***    | 18.32 $\pm$ 1.32     |

\* p<0.05 vs el sexo del mismo tratamiento \*\* p<0.05 vs GTD ♂ \*\*\* p<0.05 vs hCG ♀

En la Tabla 26 se muestran los efectos de la aplicación de GTD+hCG (20mg/kg+50 UI) sobre el crecimiento de hembras y machos de *Oreochromis niloticus* mantenidos a temperatura de 30°C en comparación con el sexo opuesto del mismo tratamiento, así como con el grupo de hCG y el desnervado. Sólo se observaron diferencias significativas en el crecimiento longitudinal entre los sexos en el grupo con GTD+hCG.

## DISCUSIÓN.

En la mayoría de los niveles de organización biológica existe una diversidad de tácticas reproductoras y los peces no son la excepción ya que presentan diversas formas y actos en los procesos reproductores que establecen temporadas reproductoras, mismas que se pueden definir como la ocurrencia de la crianza de un individuo en un tiempo específico. Las poblaciones exhiben temporadas reproductoras y sus individuos crían en forma sincrónica o asincrónica. Los ciclos temporales reproductores no necesariamente se encuentran vinculados con los ciclos reproductivos anuales; por ejemplo, un individuo, que cría en la primavera cada dos o tres años tiene un ciclo temporal, pero no un ciclo anual. La temporada reproductora incluye patrones en donde el individuo puede criar continuamente, en forma periódica en un año o una sola vez en su ciclo de vida. La temporada reproductora también puede responder a cambios específicos en el ambiente (fótoperiodo, temperatura, etc.), por ejemplo algunas especies sólo crían cuando inician las lluvias. De esta forma los peces responden a una amplia variedad de factores (señales) como en cualquier otro grupo de vertebrados (Whinttier y Crews; 1987).

Los ciclos reproductivos de varias especies de peces pueden ser influenciados por la manipulación experimental de la temperatura o la aplicación de hormonas. La temperatura es un factor importante (Fry, 1971) en los procesos metabólicos relacionados con la ingesta de alimento, pero también el metabolismo responde de forma diferente en cada una de las especies existentes de peces, de tal forma que para cada una de las especies existe un intervalo en el cual sus funciones fisiológicas actúan de forma correcta y por debajo o por arriba de este intervalo las diferentes especies ven amenazada su existencia. En la mayoría de las especies, ya sean terrestres, aéreas o acuáticas la temperatura se encuentra íntimamente relacionada en el proceso de crecimiento y sincronización de la maduración (Whinttier y Crews; 1987) y en combinación con el buen

funcionamiento de los diferentes mecanismos neuroendócrinos, hormonales e inmunológicos hacen posible el proceso de la reproducción.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que cuando las hembras de *Oreochromis niloticus* son mantenidas a 25°C, la desnervación simpática periférica resulta en una disminución en las diferentes variables implicadas, principalmente en el peso corporal y por lo tanto en el peso de gónadas cuando a los animales se les mantiene a 30°C se presenta el efecto opuesto, un incremento en las variables de peso corporal y peso de gónadas. Estos resultados nos permiten suponer que la desnervación noradrenérgica periférica afecta la respuesta de crecimiento y maduración de las gónadas dependiendo de la temperatura. Dado que en los machos la desnervación noradrenérgica no afectó significativamente la respuesta de los animales mantenidos a diferente temperatura, podemos suponer que la participación de este sistema en los mecanismos de regulación es diferente para machos y hembras. Estudios previos sobre los efectos de la desnervación noradrenérgica por la inyección de GTD sobre el crecimiento y maduración gonadal han sido realizadas principalmente en mamíferos. En la rata al realizarse la desnervación periférica con GTD ocasiona respuestas que permiten establecer que la inervación noradrenérgica participa en la regulación de la maduración gonadal, siendo diferente en la rata hembra prepúber y adulta. En la fase prepúber es de tipo inhibitoria en el adulto es de tipo estimuladora (Flores y col., 1990). Así mismo, en la cobaya la inervación catecolaminérgica participa en la regulación del crecimiento folicular y los efectos de la GTD dependerán de la etapa (al primer día de nacimiento o en el día 10) en que se realice la desnervación (Riboni y col., 1998)

Cuando se comparan los resultados de los animales de ambos sexos mantenidos a 25 y 30 °C se observa que en los machos la falta de inervación simpática periférica no afecta el crecimiento, lo que si sucede en las hembras. Este análisis nos permite proponer la existencia de un dimorfismo sexual en los

mecanismos de regulación del crecimiento y maduración gonadal que son, además, dependientes de la temperatura ya que estas diferencias no se observaron en los animales mantenidos a 30°C. Para explicar esta diferencia cabe la posibilidad de que los mecanismos de reconocimiento de la temperatura (termorreceptores) sean diferentes entre machos y hembras, sin dejar de lado lo argumentado por Holden y Reed (1972) quien menciona que las tilapias macho exhiben una tasa de crecimiento más rápida que el de las hembras y ésta se incrementa a temperaturas mayores. Las variaciones en el crecimiento se deben posiblemente a que la desnervación con GTD no sólo afecta la inervación noradrenérgica, sino a otras que se encuentren en la inervación periférica y que podrían estar involucradas en el crecimiento.

En los teleósteos, las catecolaminas son componentes importantes del sistema hipotálamo-hipófisis, principalmente en el área preóptica anterior del hipotálamo, y en los núcleos resus lateralis, resus posterioris (Joy, 1993) y tuberilis lateralis del hipotálamo. Los estudios fisiológicos han implicado la regulación de varias hormonas de la hipófisis incluida la GtH por una inervación directa de fibras hipotalámicas catecolaminérgicas (Yu y Peter, 1992). Nuestros resultados muestran que la GTD no afectó la concentración de NA hipotalámica, por lo que los resultados obtenidos no pueden explicarse por alteraciones en la secreción de GtH inducidos por cambios en la concentración de NA.

La diferencia en la concentración de NA del grupo de solución salina con respecto al grupo testigo a 25°C posiblemente se debió al estrés producido por la manipulación y la aplicación de la solución salina. Esto se puede apoyar en el comportamiento de los animales al ser manipulados y depositados nuevamente en el acuario, ya que dicho comportamiento fue de movimientos rápidos en cualquier dirección, a diferencia de aquellos animales a los que se les aplicó GTD en donde se presentó aletargamiento por aproximadamente media hora.

Dado que la desnervación simpática periférica abolió los efectos producidos por la inyección de solución salina, se puede pensar que esta inervación participa en los mecanismos de estrés.

La LH y FSH son responsables del desarrollo de los folículos, así como del proceso espermatogénico y de la actividad hormonal en las hembras y los machos. Los estudios sobre la inyección de hCG (hormona con efectos similares a la LH) en mamíferos han demostrado que sus efectos varían según la dosis empleada (Merck Index, 1996).

La respuesta diferencial en este estudio entre machos y hembras a la estimulación con hCG y su dependencia de la temperatura apoyan la idea de que entre machos y hembras existen diferencias en los termorreceptores para la detección de la temperatura ambiental. La respuesta gonadal a la estimulación con hCG varía con la especie de pez estudiado. Así, Stuart (1983) indujo la ovulación en la *Perca sp* con 50 UI/kg de hCG, mientras que en *Siganus gattatus* el desove fue inducido con 2 UI/g de peso de hCG (Ayson, 1991); en *Sparus auratus* fue necesario inyectar 100 UI/kg de hCG (Gordin y Zohar, 1978); 1540 UI/kg en *Ictalurus punctatus* (Sneed y Clemens, 1959); 3000 UI/kg en el *C. auratus* (Yamazaki, 1965) y 60 000 UI/kg en el *Mugil cephalus* (Shchadeh y col., 1973; Kuo y col., 1973) y 2 UI/ml en *Clarias macrocephalus* (Mollan y Tan, 1983). Con base en estos resultados Lam (1982) sugiere que la dosis requerida para inducir la maduración, puede estar relacionada con la capacidad de la hCG para remedar los efectos de las gonadotropinas endógenas de cada especie.

La apariencia de las gónadas de las hembras de *Oreochromis niloticus* tratadas con hCG (presentaron en los ovocitos una sustancia lechosa y una apariencia en color muy distintas a la que se presenta en condiciones normales donde su color es de un naranja amarillento y una frágil consistencia de las gónadas en las hembras tratadas) nos llevan a suponer que una sobre

estimulación gonadotrópica posiblemente aumentó la atresia folicular. Esta interpretación se apoya con los resultados obtenidos por Rowland (1983) en *Macquaria ambigua*, donde la inyección de hCG antes del inicio del desove resulta en un aparente deterioro de la calidad del ovocito. Este hecho ha sido corroborado por Pickford y Atz, 1957; Gordin y Zohar, 1978; Billard y Marcel, 1980). Berlinsky (1997) observó en *Paralichthys dentatus* que sólo el 35% de hembras inyectadas con 250 UI/kg de hCG ovularon un número reducido de ovocitos, pero únicamente una hembra tratada con hCG produjo ovocitos fértiles. Estos resultados posiblemente se explican por el deterioro de la calidad de los ovocitos.

Las diferencias observadas en la respuesta al estímulo gonadotrópico entre hembras y machos con deservación simpática periférica, nos lleva a proponer que dicha inervación juega un papel diferencial en los mecanismos de modulación de la respuesta de las gónadas a las gonadotropinas de la función gonadal entre machos y hembras.

El hecho que la temperatura afecte de manera diferencial a los animales en función del sexo parece apoyar la idea de la existencia de diferencias sexuales en los mecanismos termoreguladores. Los termorreceptores se encuentran localizados en membranas delgadas que poseen una capacidad calórica extremadamente baja y se sabe que las terminaciones nerviosas de algunas fibras sensibles a la temperatura terminan libremente en el tejido epitelial (Gordon, 1984). En los peces es conocido que la línea lateral presenta receptores térmicos (Hoar, 1996) y que estas estructuras son inervadas por los nervios craneales VII, VIII, IX y X (Gregor y col., 1986). Otras estructuras que presentan termorreceptores son los melanóforos, pero en menor proporción ya que en los peces teleósteos su principal actividad es la de el cambio del color de la piel (Goldstein, 1982). A nivel neural se sabe que los peces, como los demás vertebrados, presentan sitios de termorregulación y uno de éstos es el núcleo preóptico periventricular (NPP) sensible a la NA (Hazel, 1993). Esta información implica a receptores a la

temperatura tanto central como periféricamente, sin embargo, no se tienen referencias sobre la existencia de diferencias en los termorreceptores por sexo.

Con los resultados de este trabajo en conjunto y las evidencias bibliográficas nos permiten establecer que la desnervación periférica con guanetidina afecta de forma diferencial a hembras y machos de *Oreocromis niloticus*, en los procesos reproductivos de crecimiento y maduración en las gónadas dependiendo de la temperatura en que se encuentren 25 o 30 °C. Por otro lado una sobre estimulación con la hormona hCG ocasionó un deterioro en la calidad de los ovocitos en los peces desnervados. Por último a partir de los resultados obtenidos en la concentración de la noradrenalina en el hipotálamo se puede establecer que la guanetidina no fue capaz de atravesar la barrera hematoencefálica de *Oreocromis niloticus*.

## CONCLUSIONES.

- La temperatura a la que se mantiene a *Oreochromis niloticus* afecta de manera diferencial el crecimiento y la maduración del ovario y el testículo.
- La participación de la inervación simpática periférica en los mecanismos de regulación del crecimiento gonadal y corporal es diferente entre machos y hembras.
- La guanetidina no atraviesa la barrera hematoencefálica en los machos y hembras.
- Los efectos de la sobre estimulación gonadotrópica es afectada de manera diferencial por la desnervación simpática periférica.
- La inervación simpática periférica participa en los mecanismos de regulación del estrés.

## PROPUESTAS.

Con base en los resultados obtenidos en el estudio de la participación periférica noradrenérgica en el crecimiento y maduración gonadal de la tilapia *Oreochromis niloticus*, se presentan varias sugerencias para posteriores estudios, algunas se mencionan a continuación:

- Trabajar con temperaturas de 28 y 32 °C.
- Conocer la intensidad lumínica en los acuarios y tratar de controlada.
- Trabajar con peces a edades mayores a 90 días de edad.
- Cuantificar la concentración de catecolaminas en los ovarios y testículos en diferentes etapas del desarrollo gonadal de *O. niloticus*.
- Evaluar la participación de otras catecolaminas periféricas y neuropéptido Y en el desarrollo gonadal de *O. niloticus*.
- Evaluar la histología de los ovarios y de los testículos en las diferentes etapas de desarrollo en *O. niloticus*.
- Trabajar con diferentes concentraciones de hCG.

## REFERENCIAS.

- Arredondo F. y Guzmán A., (1985). Actual situación taxonómica de la tribu Tilapini (Pisces, cichlidae) introducidas en México. An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. Méx. 56: Ser. Zool (2); 555-572.
- Ayala M. E., Monroy J., Morales L., Castro M. E. y Domínguez R., (1998). Effects of a lesion in dorsal raphe nuclei performed during the juvenile period of the female rat, on puberty. **Brain Research Bulletin**, Vol. 47, No. 3: 211-2118.
- Ayson G. F., (1991). Induced spawning of rabbitfish, *Siganus gattatus* (Bloch) using human chorionic gonadotropin (hCG). **Aquaculture**, 95: 133-137.
- Baggerman, B., (1990). Sticklebacks, En: Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental Influences, Munro, A.D, Scott, A.P. and Lam, T. J., CRC Press, Boca Raton, Flo. Cap. 5.
- Barraclough. C. A., (1984). A role for hypothalamic catecholamines in regulation of gonadotropin secretion. **Recent Prog. Horm. Res.**, 40: 487-529.
- Benítez, J. C., (1991). Comunicación personal. ENEP Iztacala, UNAM. En Rodríguez G. M., 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. Eds. AGT México.
- Berlinsky L. D; King. V. W; Hodson G. R y Sullivan V. C., (1997). Hormone Induced Spawning of Summer Flounder *Paralichthys dentatus*. **J. of the World Aquaculture Society**, 28: 79-86.
- Billard R. , K. Alagarswami, R., E. Peter, y Breton B. (1993). Potentialisation par le pimozide des effets du LHRH-A sur la secretion gonadotrope hypophysaire, l ovulation et la spermiation chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*) **C. R. Acad. Sci. (Paris)** 296: 181-184.

- Billard R. y Marcel J., (1980). Stimulation of spermiation and induction of ovulation in pike (*Esox lucius*). **Aquaculture**, 21: 181-195.
- Billard R., Reinaud P., Hollenbecq M. G., y Breton B., ( 1984). Advancement and synchronisation of spawning in *Salmo gaudneri* and *S. trutta* following administration of LHRH-A combined or not with pimozide. **Aquaculture**. 43: 57-66.
- Bretón, B. (1989). Neuropeptide Y (NPY) modulates *in vitro* gonadotropin release from rainbow trout pituitary glycs **Fish Physiol. Biochem.**, 7: 77.
- Burden W. H., Ovarian innervation. En: Jones R. E. (1978). The vertebrate ovary: comparative biology. Eds. Plenum Press, New York. pp., 615-638.
- Chang J. P. y Cook A. F., y Peter R. E., (1983). Influences of catecholamines on gonadotropin secretion in goldfish *Carassius auratus*. **Gen. Com. Endocrinol.** 49: 22-31.
- Chang, J.P. y Mackenzie, D.S., (1984). Effects of dopamine and norepinephrine on *in vitro* spontaneous and gonatropin-releasing hormone-induced gonadotropin release by dispersed cells or fragments of the goldfish pituitary. **Life Sci.** 35: 2027-2033.
- Chang. J. P. Van Goor, F., (1991). Influences of norepinephrine and adrenergic agonists and antagonists on gonatropin secretion from dispersed pituitary cells of gold fish. **Neuroendocrinology** 51: 644-674.
- Chang. J. P., Yu K. L., Wong A. O., y Peter R. E., (1990). Differential actions of dopamine receptor subtypes on gonadotropin and growth hormone release *in vitro* in goldfish. **Neuroendocrinology** 51: 664-674

Davies B., Swanson, P., y Bromage, N. (1995). The effects of photoperiod and temperature on serum GtH I and GtH II and the timing of maturation in the female rainbow trout. En: "Reproductive physiology of fish" Eds. Goetz and Thomas. Of the fifth international symposium, Austin, USA. p. 186.

De Leeuw R., Goos H. J., y Van Oordt P. G. W. (1986). The dopaminergic inhibition of the gonadotropin-releasing hormone-induced gonadotropin release: An *in vitro* study with fragments and cell suspension from pituitaries of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). **Gen. Com. Endocrinol.** 63: 171-177.

Domínguez. R; Chávez R., y Cruz. E., (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico En: "Tópicos selectos de la biología de la reproducción" Eds. U.N.A.M y Miguel Ángel Porrúa, México. p 190.

Domínguez González A., Matsumara P., Timossi C., Cruz M. E. y Domínguez. R., (1998). Characterization of monoamine neural activity in the preoptic anterior hypothalamic area and medial basal hypothalamus in rats during the day of pro-oestrus and its relation to gonadotrophin and sexual steroid hormone plasma levels. **Medl Sci Res.** 26: 275-278.

Dufour S., López E., Le Menn F., Le Belle N., Baloché S., y Fontaine Y. A., (1988). Stimulation of gonadotropin release and ovarian development by administration of a gonadoliberin agonist y of dopamine antagonist in female silver eel prereated with estradiol. **Gen. Com. Endocrinol.** 70: 20-30.

Elizur A. M., Zmopra N., Knibb W. R., y Zohar Y. (1995). **Seabream gonadotropins: sexual dimorphism in gene expression.** En: "Reproductive physiology of fish" Eds. Goetz y Thomas. Of the fifth international symposium, Austin, USA., pp. 14-15.

Elizur A. M., Zmopra N., Rosenfeld H., Meiri I., Hasing S., Gording H., y Zohar Y., (1996). Gonadotropins  $\beta$ -GtHI and  $\beta$ -GtHII from the Gilthead Seabream, *Sparus aurata*. **Gen. Com. Endocrinol.** 102: 39-46.

- Evans H. D., (1993). The Physiology of fish. Eds. CRC Press, USA. pp.435
- Fink G. (1986) The endocrine control of ovulation. *Sci. Prog., Oxf.* 70: 403-423.
- Flores A., Ayala M. E., y Dominguez R., (1990). Does noradrenergic peripheral innervation have a different role in the regulation ovulation in the pubertal and the adult rat. *Med Sci Res.* 18: 817-818.
- Fryer, G. y Iles., (1972). The cichlid fishes of the great lakes of Africa-Their biology and evolution. En: "Applied Genetics of Tilapias " 1983.
- Cailliet G., M., Love M., S., y Ebeling W., A., (1986). Fishes. Eds. Wadsworth Publishing Company California U.S.A . p.,53.
- Goldstein L., (1992). Fisiología comparada. Eds. Interamericana, México, pp., 388-389.
- Goodman L. S. y Gilman A.,(1991). Las bases farmacológicas de la terapéutica Eds. Panamericana 8ª Edición México . p., 775.
- Gordon S. M., (1984). Fisiología animal principios y adaptaciones al medio ambiente. Eds. Continental México. México. pp., 478-479.
- Gordin H. y Zohar Y., (1978). Induce spawning of *Sparus auratus* (L.) by means of hormonal treatments. *Ann. Biol. Anim. Biochim., Biophys.* 18(4): 985-990.
- Groves D. J. y Batten T. F. C., (1986). Direct control of the gonadotroph in a teleost. *Gen. Com. Endocrinol.* 62: 365.
- Harvey B. y Hovar, W., (1980). Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo. Ottawa, Ont. CIID p 48.

Hazel R. J., (1993). Thermal Biology en: Evans H. D., (1993). The Physiology of fish. Eds. CRC Press.USA. p.435.

Hernández B. S. y Benítez F. J. C., (1988). Taller de actualización las hormonas en la producción piscícola. ENEP Iztacala, UNAM México p109.

Hoard W. S., (1996). Fisiología general y comparada. Eds. Omega.Barcelona. pp., 453.

Hoard W. S. y Randall D. J., (1969). Fish Physiology Reproduction and Growth Bioluminescencia, Pigments, and Poisons Eds. Academic Press London pp. 45-46.

Holden M. y Reed W., (1972). West African fresh water fishes En: "Manipulación del sexo de la tilapia sin esteroides". **J. of the World Aquaculture Society**. 26 (1):98-102.

Idler, D. R. 1983. Teleost gonadotropins: Isolation, biochemistry and function, En: "Fish Physiology", Vol. IX B A. Hoar, W. S., Ryall, D. J and Donaldson. Academic Press NY. p. 187-212

Jalabert, B. y Zoar, Y., (1982). Reproductive physiology in cichlid fishes, with particular reference to Tilapia and Sarotherodon. En: "The Biology and Culture of Tilapias". Ed. R.S.V. Pullin y R.H. Lowe-McConnell Filipinas, pp. 129-140

Joy K. P., (1993). Hypothalamic monoamines and gonadotroping regulation in teleosts. **Indian Rev. Life Sci.** 13: 83-119.

Kawachi H., (1989). The duality of teleost gonadotropins, **Fish Physiol. Biochem**, 7, 29.

- Kerdelhué B., Bonja F., Lesieur P., Pascualini C., El Abad A., Lenoir V., Doviller P., Chiueh M. C., y Palkovist M., (1989). Median eminence dopamine and serotonin neural activity. *Neuroendocrinology*. 49: 176-180.
- Khan I. A. y Joy K. P., (1990). Differential effects of photoperiod and temperature on hypothalamic monoaminergic activity in the teleost *Channa punctatus* (Bloch). En " Senthilkumaran B., Joy K. P., (1995). Changes in hypothalamic catecholamines, dopamine  $\beta$ -hydroxylase, and phenylethanolamine-N-methyltransferase in the catfish *Heteropneustes fossilis* in relation to season, raised photoperiod and temperature, ovariectomy, and estradiol-17 $\beta$  replacement". *Gen. and Comp. Endocrinology*. 97: 121-134.
- Khan O. y Dulka J. G., Dubourg P., Thibault J., y Peter R. E., (1987). Neuroanatomical substrate for the the inhibition of gonadotropin secretion in goldfish: Existence of a dopaminergic preoptic-hypophyseal pathway. *Neuroendocrinology*. 45: 451-458.
- Kuo C. M., Shehadeh Z. H., (1973). Induced spawning of captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.) females by injection of human chorionic gonadotropin (hCG). *Aquaculture*. 1(4): 429-432.
- Lagler K. F., (1984). Ictiología. Eds. AGT, México. p., 489.
- Lam T. J., (1982). Applications of endocrinology to fish culture. *Can J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 111-137.
- Lam T. J., (1983). Environmental influences on gonadal activity in fish *Physiology*, Vol. IX B, Hoar, W. S., Randall, D. J., and Donalson, E. M., Eds., Plenum Press, New York. pp. 67
- Lescheid W. D., Teresawa Ei, Abler A. L., Urbanisky H. F., Warby C. M., Millar R. P., y Sherwood N. M., (1997). A second form of gonadotropin-releasing hormone

- (GnRH) with characteristics of chicken GnRH-II is present in the primate brain. *Endocrinology*. 138: 5618-5628.
- Linard B., Bennani S., y Saligaut C., (1995). Involvement of estradiol in a catecholamine inhibitory tone of gonadotropin release in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Com. Endocrinol.* 99: 192-196.
- Linard B., Anglade A. Corio M., Navas J. M., Pakdel F., Saligaut C., y Kah O., (1996). Estrogen receptors are expressed in a subset of tyrosine hydroxylase-positive neurons of the anterior preoptic region in the rainbow trout. *Neuroendocrinology*. 63: 156-165.
- Matsuo H., Bata Y., Nair R. M. G., Arimura A. y Schally A. B., (1971). Structure of the porcine LH and FSH-releasing hormone I. The proposed amino acid sequence. En: "Temas selectos de la biología de la reproducción" Edit. Miguel Ángel Porrúa. México, pp., 59.
- Merck Index (1996). An encyclopedia of chemical, drugs and biologicals. Eds. Merck&co.Inc. NY. p.,2273.
- Merle I., Gothif Y., Knibb W. R., Zhoar Y., y Elizur A. (1995). Preovulatory changes in gonadotropin gene expression and secretion in the gilthead seabream, *Sparus auratus*. En: "Reproductive physiology of fish" Eds. Goetz and Thomas. Of the fifth international symposium, Austin, USA. p. 186.
- Mollan M. F. A., y Tan E. S. P., (1983). HCG-Induced spawning of the catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther). *Aquaculture*. 35: 239-247.
- Mousa A. M., y Mousa A. S., (1999). Immunocytochemical study on the localization and distribution of the somatolactin cell in the pituitary gland and the brain of *Oreochromis niloticus* (Teleostei, Cichlidae). *Gen. and Com. Endocrinology*. 113: 197-211.

- Nagahama, Y., (1983). The functional morphology of teleost gonads. En "Fish physiology" (W. S. Hoar, D. J. Ryall y E. M. Donaldson, Edit. ), Vol. IX A., Academic Press. New York. pp., 223-275
- Norris O. D., y Jones. E. R., (1987). Hormones and reproduction in fishers, amphibian, and reptiles. Eds. Plenum Press New York. p. 386.
- Nozaki M., Naito N., Swanson p., Dickhoff W. W., Nakai Y., Suzuki K., y Kawauchi H., (1990). Salmonid pituitary gonadotrophs. II. Ontogeny of GtH I and GtH II cell in the rainbow trout *salmo Gardneri irideus*. *Gen. Com. Endocrinol.* 77: 358-367.
- Omeljaniuk R. J., Shih S. M., y Peter R. E., (1987). *In vivo* evaluation of dopamine receptor-mediated inhibition of gonadotropin secretion from the pituitary gly of the goldfish, *Carassius auratus*. *J. Endocrinol* 114: 449-458.
- Peña M. B., (1999). Análisis de los factores ambientales y neuroendócrinos que regulan el crecimiento y la maduración sexual de la tilapia *Oreochromis niloticus*. Tesis de Doctorado. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza U.N.A.M México p. 47.
- Peter, R. E., (1982). Neuroendocrine control of reproduction in teleosts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 48-55.
- Peter, R. E., (1986). Distribution of noradrenaline in el brain of teleosts. *J. Com. Neurology.* 254: 297-313.
- Peter, R. E. y Paulencu C. R., (1980). Involvement of preoptic region in gonadotropin release-inhibition in goldfish *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology* 31: 133-141.
- Peter, R. E. y Yu K. L., y Rosenblum P. M., (1990). Direct neural regulation of the teleost adenohypophysis. *J. Exp. Zool* 4: 84.

Pickford G. E., Atz J. W., (1957). The physiology of the pituitary gland of fishes. Zoological Society, New York, pp., 613.

Powell J. F. F., Zohar Y., Elizur A., Park M., Fischer W. H., Craig A. G., Rivier J. E., Lovejoy D. A., y Sherwood N. M., (1994). Three forms of gonadotropin-releasing hormone characterized from brains of one specie. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** Vol. 91: 12081-12085.

Prat, F., Sumpter J. P., y Tyler R. C., (1996). Validation of radioimmunoassays for two salmon gonadotropins (GtHI and GtHII) and their plasma concentrations throughout the reproductive cycle in male an female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Biol. Reprod.** 54: 1375-1382.

Quiroz. L. U., (1999). Participación de la inervación catecolaminérgica, presente en la gónada fetal de la rata, sobre el crecimiento y diferenciación del folículo ovárico. Tesis de maestría Facultad de Estudios Superiores Zaragoza U.N.A.M México. p 19.

Redding J. M., y Patiño N., (1993). Reproductive Physiology. En: Evans H. D., (1993). The Physiology of fish. CRC Press.USA. pp. 503-534

Riboni L., Escamilla C., Chavira R., y Domínguez R., (1998). Effects of peripheral sympathetic denervation induced by guanethidine administration on the mechanisms regulating puberty in the female guinea pig. **J., of Endocrinol.** 156: 91-98.

Rodríguez G. M., (1992). Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces Eds.. AGT Editor. México. p. 2.

Rowland J. S., (1983). The hormone-induced ovulation and spawning of the australian freshwater fish golden perch, *Macquaria Ambigua* (Richardson) (Percichthyidae) **Aquaculture**, 35: 221-238.

- Ruiz Durá F., (1988). Fundamentos de embriología y fisiología de la reproducción  
Edit.U.N.A.M. México. p. 202.
- Saligaut C., Linard B., Mañanos E. L., Kah O., Breton B., y Govoroun M.,  
(1998). Release of pituitary gonadotrophins GtH I and GtH II in the rainbow  
trout *Oncorhynchus mykiss*: modulation by estradiol and catecholamines. *Gen.  
Com. Endocrinology*. 109: 302-309.
- Sas E., Maler L., y Tiner B., (1990). Catecholaminergic system in the brain of a  
gymnotiform teleost fish: An immunohistochemical study. *J. Com. Neurol.* 292:  
127-162.
- Schultz R. W., Bogerd J., Bosman P. T., Peute J., Rebers F. E. M., Zyberger M.  
A., y Goos H. J., (1995). Physiological, morphological, and molecular aspects of  
gonadotropins in fish with special reference to the african catfish. En  
"Reproductive physiology of fish" Eds. Goetz and Thomas. Of the fifth  
international symposium, Austin, USA., pp. 2-4.
- Shannon N. J., Gunnet J. W., y Moore K. E., (1986). A comparison of biochemical  
indices of 5-hydroxytryptaminergic neuronal activity following electrical stimulation  
of the dorsal raphe nucleus. *J. of Neurochemical*. 47: 958-965.
- Secretaría de Pesca., (1986). Piscicultura de agua dulce, Manual recetario:  
Bagre—Carpa—Trucha—Tilapia. México. p. 461.
- Senthilkumaran B., y Joy K. P., (1995). Changes in hypothalamic catecholamines,  
dopamine  $\beta$ -hydroxylase, and phenylethanolamine-N-methyltransferase in the  
catfish *Heteropneustes fossilis* in relation to season, raised photoperiod and  
temperature, ovariectomy, and estradiol-17 $\beta$  replacement. *Gen. and Comp.  
Endocrinology*. 97: 121-134.

- Shchadeh Z. H., Kuo C. M y Milisen K., (1973). Validation of an *in vivo* method for monitoring ovarian development in the gray mullet (*Mugil cephalus*). **J. of Fish Biology**, 5: 489-496.
- Sherwood N. M., (1993). Origin of Mamalian Gonadotropin Releasing hormones. **Endocrine Rev.** vol. 14 No. 2., p. 241-254.
- Sneed K. E., y Clemens H. P., (1959). The use of chorionic gonadotrophin to spawn warmwater fishes. **Prog. Fish Cult.** 21 (3): 117-120.
- Somoza, G. M., y Peter R. E., (1991a). Effect of serotonin on gonadotropin and growth hormone release from *in vitro* perfused goldfish pituitary fragments, **Gen. Com. Endocrinol.**, 82: 103.
- Somoza, G. M., y Peter R. E., (1991). Serotonin stimulates gonadotropin release in female and male goldfish, *Carassius auratus* L. **Gen. Com. Endocrinol.**, 72: 374-382.
- S.P.P. (1981). Síntesis Geográfica del Estado de Morelos. INEGI, México.
- Stojkovic S. S., Izumi S. I., y Catt K. J., (1989). GnRH and central control of reproductive function: mechanisms of secretory responses to GnRH. En: Genazzani AR. Petraglia F. Volpe A. (eds) Progressing Gynecology and Obstetrics. The Pathenon Publishing Group lanes, UK, pp. 675-681.
- Stojilkovic S. S., Torsello A. lida T. T. Rojas E., y Catt KJ. (1992). Calcium signaling and secretory responses in agonist stimulated pituitary gonadotrophs. **J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.** 41: 453-467.
- Sundajara, B. I., y Goswami, S. V., (1966). Effects of mammalian hypophysial hormones, placental gonadotropinas, hormonas gonadal, and adrenal corticoesteroids on ovulation and spawning in hypophysectomized catfish, *Heteropneustes fossilis* (Blonch). **J. Exptl. Zool.** 161, 287-296. En "Hoard and

- Randall. 1969. Fish Physiology: Reproduction and Growth Bioluminescencia, Pigments, an Poisons " Eds. Academic Press London p 50.
- Suziki, K., (1988). Steroidogenic activities of two distinct salmon gonadotropins, **Gen. Com. Endocrinol.** 71: 452.
- Swanson P., y Dickey J. T., (1996). Regulation of gonadotropin I by sex stteroids and gonadotropin-releasing hormone in Cho salmon. En "Abstracts of the 3<sup>rd</sup> international symposium on fish endocrinology" Japón p. 65.
- Tanaka H., Kagawa H., y Hirose K., (1995). Steroidogenic activities of two distict gonadotropin in red seabream, *Pagrus major*. En: "Reproductive physiology of fish" Eds. Goetz and Thomas. Of the fithth international symposium, Austin, USA., pp. 10-12.
- Trudeau V. L., Soley B. D., y Peter R. E., (1993). Norepinephrine turnover in the golfish brain is modulated by sex steroids and GABA. **Brain Res.** 624: 29-34.
- Trewavas E., (1973). On the cichlid fishes of the genus *Pelm chromis* and *tilapia* and the reconigton of Sarothedon as a disting genus. **Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool)** 25: 1-26.
- Turnen C. D. (1966). General Endocrinology 4Eth. Ed. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania en Hoard and Randall. 1969. En: "Fish Physiology Reproduction and Growth Bioluminescencia, Pigments, an Poisons" Eds. Academic Press London pp. 50.
- Vyerkraak, G., (1992). Propertys of common carp gonadotropin I and Gonadotropin II **Gen. Com. Endocrinol.**, 85: 217.
- Wasserman, W. J., y Smith, L. D., (1978). Oocyto maduration in nonmammalian vertebrates. En "The Vertebrate Ovary" Eds. Plenum Press, New York pp. 443-468.

Whittier J., y Crews D., (1987). Seasonal reproduction: patterns and control. En: Norris O. D. Jones. E. R., (1987). Hormones and reproduction in fishes, amphibian, and reptiles. Eds. Plenum Press, New York, p. 385

Woosley R. L., y Nies A. S., (1976). Guanethidine En Goodman L. S., Gilman A., (1991). "Las bases farmacológicas de la terapéutica". Eds. Panamericana, 8ª Edición, México, pp.. 775.

Yamazaki F., (1965). Effects of fish and chorionic gonadotropin on ovulation of goldfish *Carassius auratus*. **Mem. Facult. Fish. Hokkaido Univ.** 13: 1-68.

Yu K. L., y Peter R. E., (1992). Adrenergic and dopaminergic regulation of brain gonadotropin-releasing hormone release from goldfish preoptic-anterior hypothalamus and pituitary *in vitro*. **Gen. and Com. Endocrinology.** 85: 138-146.