

51281 2
2ej

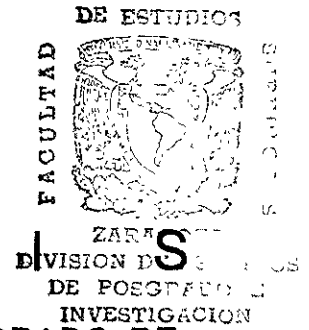


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN.**

**ANÁLISIS DE LOS FACTORES AMBIENTALES Y
NEUROENDÓCRINOS QUE REGULAN EL CRECIMIENTO
Y LA MADURACIÓN SEXUAL DE LA TILAPIA**
Oreochromis niloticus



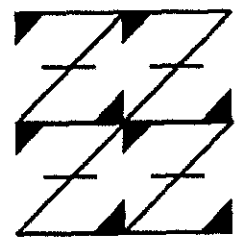
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P R E S E N T A:

BERTHA PEÑA MENDOZA

UNAM
FES
ZARAGOZA



LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXION

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

DIRECTOR: DR. ROBERTO DOMÍNGUEZ CASALÁ

272012

MEXICO, D.F.

MARZO DE 1999



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**

**"ANÁLISIS DE LOS FACTORES AMBIENTALES
Y NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN EL CRECIMIENTO Y
LA MADURACIÓN SEXUAL DE LA TILAPIA *Oreochromis niloticus*.**

AUTOR: BERTHA PEÑA MENDOZA

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 proyectos 500302 y 500304 y parcialmente por DGAPA 210893 y PUIS-UNAM.

MÉXICO, D.F.

MARZO, 1999

AGRADECIMIENTOS

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

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá
Dra. Annabella Handal Silva
Dr. Xavier Chiappa Carrara
Dra. Patricia Rosas Saucedo
Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán
Dra. Ma. Luisa Fanjul Peña
Dr. Enrique Pedemera Astegiano

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

Al M. en C. José Luis Gómez Márquez, por su asesoría, consejos y amistad durante mi vida académica.

A todos y cada uno de los integrantes del Laboratorio de Limnología:

Dr. Isaías H. Salgado U.	Biól. Oscar Flores M.	Biól. Alejandro Cordova C.
Biól. Mercedes Garduño P.	Biól. Juan Avelar E.	Biól. José Luis Guzmán S.
Q.F.B. Sandra Ortega M.	Pas. de B. Silvia Ramos M.	Est. Mitsui V. Saito Q.
Biól. Gabriel Jaramillo S.	Biól. Antonio Sánchez V.	Pas. de B. Efrén Romero M.

por el apoyo y ayuda brindada para la elaboración de éste trabajo.

A los integrantes de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción por su amistad, muy especialmente a la Dra. Rebeca Chávez Genaro y Dra. Ma. Elena Ayala Escobar por la asesoría y apoyo en el trabajo de cromatografía, así como a la laboratorista Ma. Luisa Illescas Vera por su apoyo en las técnicas histológicas.

A los Centros de Producción de peces "El Rodeo" y "Zacatepec" pertenecientes a la SEMARNAP del Estado de Morelos, por la donación de crías para la realización de éste trabajo.

A la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza" por haber permitido mi desarrollo profesional y académico.

ÍNDICE

Contenido:	Página
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
INTRODUCCIÓN	1
Reproducción	3
Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada	11
Neurotransmisores	19
Regulación de la Reproducción	23
Factores Ambientales	26
FAMILIA CICHLIDAE	29
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
HIPÓTESIS	34
MÉTODOS	35
RESULTADOS	37
DISCUSIÓN	71
CONCLUSIONES	83
PROPUESTAS	84
BIBLIOGRAFÍA	85
ANEXO 1	92
PUBLICACIONES	93

RESUMEN

El crecimiento y maduración sexual de la tilapia *Oreochromis niloticus* es regulado por factores ambientales, como la densidad de carga, la temperatura y el fotoperiodo (horas luz) a la cual se cultiven; así como de factores neuroendócrinos.

El estudio se llevo a cabo en acuarios de vidrio de 40 litros de capacidad, temperatura constante y aireación continua, con crías de *Oreochromis niloticus* de aproximadamente 30 días de nacidas, las que se sometieron a diferentes condiciones de densidad, temperatura y fotoperiodo por 90 días. Se observó que los machos tienen mejor crecimiento a menor densidad de carga, mientras que en las hembras no influye el número de animales por unidad de volumen, cuando menos hasta la edad de 120 días. El crecimiento tanto en peso total como en longitud, no se vió afectado por las diferentes condiciones de fotoperiodo al cual fueron sometidos los machos, sin embargo, en las hembras dicho crecimiento fue mejor al exponerlas a condiciones de obscuridad total. Con base en los resultados de varios experimentos se pueden establecer dos periodos de reproducción primavera-verano e invierno.

La concentración de noradrenalina (NA), dopamina (DA) y serotonina (5-HT), así como la actividad de las neuronas dopaminérgicas y serotoninérgicas presentaron diferencias sexuales, que parecen ser independientes de la temperatura y el fotoperiodo al cual fueron sometidas las tilapias. No se descarta la posibilidad de que algún otro factor endógeno, pueda estar regulando el desarrollo gonadal de *Oreochromis niloticus* como lo serían el neuropéptido Y, el ácido γ - amino butírico (GABA) ó los catecolestrógenos.

ABSTRACT

Growth and sexual maturation of the tilapia *Oreochromis niloticus* are regulated by charge density, temperature, photoperiod and neuroendocrine factors.

The present study was performed in 40 liters, glass aquariums with temperature and aeration continuous. Thirty day old fingerlings of *Oreochromis niloticus* , were maintained in different conditions of density, temperature and photoperiod during 90 days. The best growth was obtained by males when they were maintained in conditions of 4 fish/aquarium; charge density did not affect female growth. Male growth was not affected by photoperiod, while female growth was higher when they were maintained in a 0/24 hours light/dark condition. The higher gonadal index was observed in those animals sacrificed during the spring-summer or winter seasons.

Hypothalamic concentration of noradrenaline (NA), dopamine (DA), serotonin (5-HT), and neurons dopaminergic and serotonergic activity were different between sexes; these differences were independent of temperature and photoperiod. Based in present and other studies, we presume that gonadal maturation in *Oreochromis niloticus* is regulated by several factor including neurotransmitters (NA, DA and 5-HT) and hormones, and that the interactions between them are modulated by external factor.

INTRODUCCIÓN

Todos los seres vivos tienen tres sistemas de comunicación: los sistema nervioso: endócrino e inmune y cada uno de ellos posee un tipo específico de mensajeros. Las células nerviosas se comunican por la liberación de neurotransmisores, las glándulas endócrinas por hormonas y el sistema inmune por citocinas. Estos tres sistemas no son independientes, ya que interactúan entre si, por lo que se le ha denominado como el sistema neuroinmunoendócrino (Brown, 1994).

En los peces la complejidad de la interacción de los componentes de los sistemas antes mencionados, se incrementa por la cantidad de especies que existen y sus diversas adaptaciones a la variedad de hábitats que ocupan. Los peces, más que cualquier otro grupo de vertebrados, tienen hábitats muy variados y en consecuencia, mayores diferencias en comportamiento.

En los peces, como en otros vertebrados, el ciclo endógeno de la reproducción es modulado por ritmos exógenos que regulan el "reloj biológico". Entre estos ritmos exógenos se encuentra el ciclo de luz-obscuridad -ciclo diario y anual cuyas características dependen de la latitud geográfica-, la disponibilidad de alimento, presencia del sexo opuesto, temperatura, así como de algunos factores bióticos y abióticos del agua (Figura 1) (Brett, 1979; Bye, 1984).

La mayoría de las especies tienen estaciones del año definidas para el desove como parte de sus interrelaciones reproductoras cronometradas. Los peces de aguas cálidas desovan durante el verano y los de aguas frías durante el otoño e invierno y algunas especies tropicales desovan durante todo el año. Las temporadas fijas de desove están relacionadas con el grado de desarrollo que presentan los peces, por lo que se cree que los ciclos reproductivos circanuales endógenos son probablemente universales y están sincronizados con las estaciones como repuesta a las condiciones ambientales (Bye, 1984).

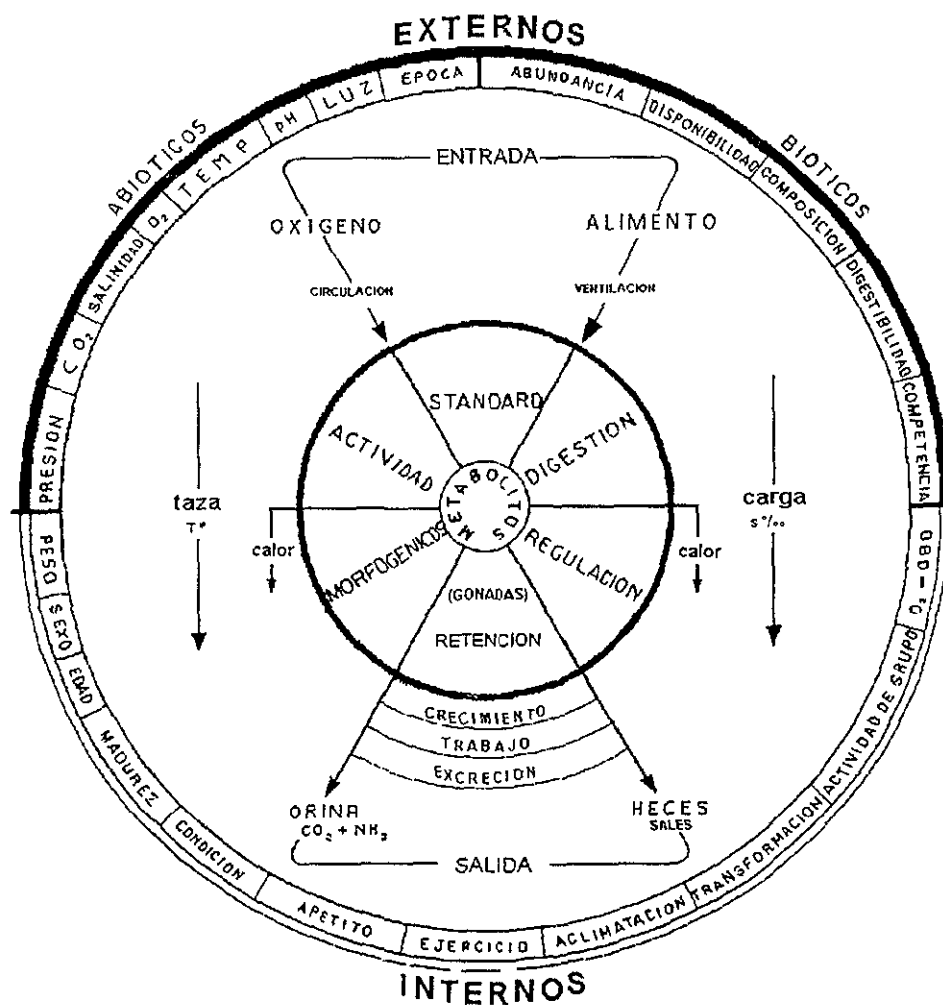


Figura 1. Factores externos e internos que afectan el crecimiento de los peces (tomado de Brett, 1979).

El sistema reproductor de los vertebrados está formado por las gónadas (testículos u ovarios), la hipófisis, el hipotálamo, los órganos sexuales accesorios como trompas y útero, los conductos deferentes y varias glándulas que producen secreciones que ayudan a la supervivencia y salida de las células germinales, donde las hormonas juegan un papel importante en: 1) la formación de gametos; 2) la maduración, el mantenimiento y la preparación del animal para el apareamiento en el momento apropiado; 3) la preparación de los conductos gonadales para recibir las descargas de

los óvulos, expulsar espermatozoides o ambas funciones; 4) las condiciones adecuadas para la unión del espermatozoide y el óvulo; 5) el crecimiento, desarrollo y diferenciación del huevo fertilizado hasta llegar a un adulto viable (vivíparo) (Goldstein, 1982).

REPRODUCCIÓN

La reproducción es el proceso por medio del cual se perpetúan las especies y en combinación con los cambios genéticos, aparecen por primera vez características para las nuevas especies (Lagler *et al.*, 1984).

En los peces se observan por lo menos tres tipos de reproducción: bisexual, hermafrodita y partenogénica. En la reproducción bisexual que es la clase que prevalece, los espermatozoides y los óvulos se desarrollan en individuos masculinos y femeninos por separado. En el hermafroditismo (un tipo de intersexualidad) los dos sexos se encuentran en un mismo individuo. En algunas especies existe la autofertilización y en otras el verdadero hermafroditismo funcional como sucede en ciertos serránidos, salmónidos, percas y hueros los cuales funcionan primeramente como machos y luego como hembras. Finalmente la partenogénesis que consiste en el desarrollo del óvulo sin fertilización, condición que debería de llamarse ginogénesis y ocurre en un pez tropical, poecílido vivíparo del Amazonas (*Poecilia formosa*) (Lagler *et al.*, 1984) y en algunas poblaciones de *Carassius auratus* (Hoar, 1969).

En los peces influyen muchos factores que estimulan el desarrollo de la capacidad para reproducirse y pueden reunirse en dos grandes grupos: los intrínsecos (que aparecen en el propio pez) y los extrínsecos (que se encuentran en el medio ambiente). Entre los factores intrínsecos que determinan la primera maduración sexual y los subsecuentes desoves y maduraciones se encuentran la especie y su juego cromosómico como factor hereditario, el alimento y finalmente el todo fisiológico del individuo (Lagler *et al.*, 1984), mientras que los extrínsecos son aquellos factores bióticos y abióticos que se dan de forma natural en el ambiente que los rodea.

En la regulación de la reproducción de los peces, los procesos de transducción están relacionados con diversos fenómenos neurofisiológicos que inducen algún comportamiento en especial (migración hacia el sitio de reproducción o el desove de ciertas especies). Asimismo, estos procesos se encuentran relacionados con cambios en la secreción hipotalámica del factor liberador de las gonadotropinas (GnRF) o la modificación de sus efectos sobre la hipófisis (Peter, 1983).

El proceso reproductivo es regulado por hormonas de origen hipotalámico: GnRH; FSH, LH, prolactina; y de las gónadas (estrógenos, andrógenos, progesterona). En los mamíferos se ha mostrado que los efectos de las gonadotropinas son modulados por la información neural que llega a las gónadas por dos vías principales: el nervio ovárico superior y el nervio vago (Freeman, 1988; Everett, 1988; Domínguez *et al.*, 1991).

Testículos

Los testículos en los peces son estructuras pares en la mayoría de las especies, internos y de forma longitudinal. Están suspendidos por tejido conjuntivo (mesorquia) en la sección superior de la cavidad del cuerpo y se les puede localizar hacia los lados, a todo lo largo, o por debajo de la vejiga gaseosa, cuando está presente (Figura 2). Están compuestos de túbulos donde se desarrollan los espermatozoides, proceso al que se le denomina espermatogénesis o espermiogénesis.



Figura 2. Posición de los testículos en los peces

El tamaño y color de los testículos varía según el estado de maduración de estos órganos y el desarrollo sexual, su peso puede llegar a ser igual o mayor al 12% del peso corporal. A menudo su color es blanco cremoso y de superficie lisa. En los teleósteos la estructura de los testículos es variable de especie a especie, aunque existen dos tipos básicos, lobular y tubular, los cuales pueden identificarse con base en la diferenciación del tejido germinal (Billard *et al.*, 1982 citado por Nagahama, 1983).

Los testículos de tipo lobular son típicos de los teleósteos y están compuestos por numerosos lóbulos, que se encuentran separados unos de otros por una capa de tejido fibroso conectivo. En los lóbulos, la espermatogonia primaria sufre numerosas divisiones mitóticas hasta producir cistos que contienen varias células germinales en un mismo estado de desarrollo.

La espermatogonia en sus primeras etapas es una célula grande de forma ovoide con núcleo grande, redondo que se divide repetidamente. Posteriormente la espermatogonia se torna más pequeña y redonda y se transforma en espermatocito primario, donde se inicia la meiosis y se da la primera división de maduración y el espermatocito primario se transforma en secundario, luego de la segunda división meiótica se origina la espermatida. La espermatida ya no sufre división celular, únicamente realiza el proceso de maduración o espermiogénesis con el que se transforma en espermatozoide con su estructura básica de cabeza, pieza intermedia y flagelo. Cuando se da la espermatogénesis y por lo tanto el proceso de espermiogénesis, los cistos se expanden y se rompen, liberando el esperma dentro del lumen lóbular que es continuo con el ducto espermático (Figura 3) (Nagahama, 1983; Redding & Patiño, 1993).

Las células intersticiales están entre los túbulos seminíferos en forma aislada o formando pequeños grupos. En salmónidos inmaduros se ha demostrado que forman racimos, mientras que en los testículos maduros estas se distribuyen de manera individual en los estrechos espacios intertubulares, lo que indica una migración de las células intersticiales hacia los túbulos durante el desarrollo del testículo. Las células intersticiales tienen la estructura típica de las células productoras de esteroides, son células grandes, poligonales con retículo endoplásmico liso muy desarrollado y mitocondrias tubulares (Nagahama *et al.*, 1978).

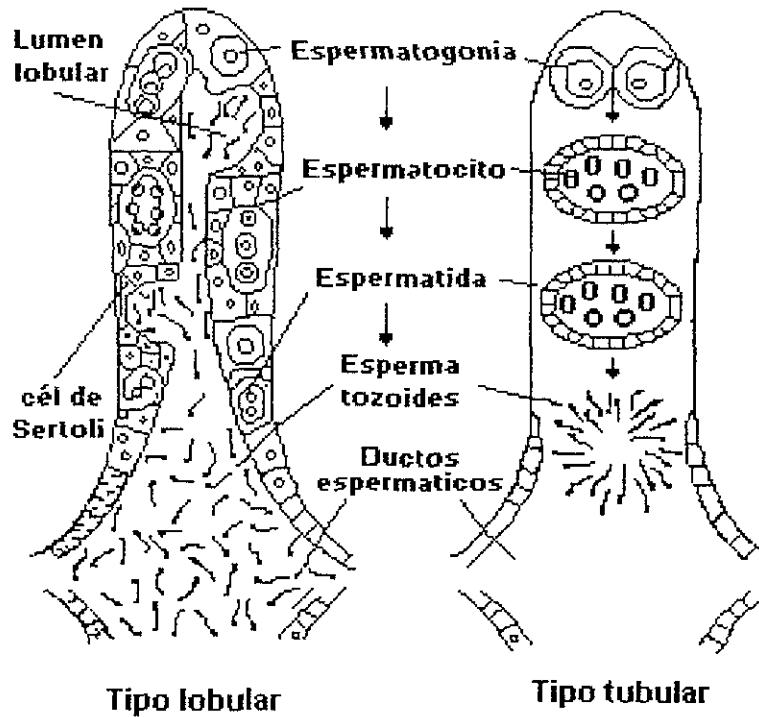


Figura 3. Corte transversal de testículo
tomado de Nagahama, 1983.

Las células de Sertoli se localizan dentro de los túbulos seminíferos y están rodeadas por las germinales (gonias, espermatocitos y espermatozoides) y sus funciones son el abastecimiento de nutrimentos y la secreción hormonal y de proteínas, en tanto que las células de Leydig se encuentran en el espacio intertubular y su principal producto de secreción es la testosterona y la 11-cetotestosterona, que estimulan el crecimiento, la diferenciación de los órganos sexuales secundarios masculinos y estimula el comportamiento sexual. Al igual que los estrógenos regulan de manera inhibitoria la secreción de las gonadotropinas (Nagahama *et al.*, 1978).

Las secreciones de los conductos espermáticos y los espermatozoides forman el esperma que el pez expulsa durante la temporada de desove. A fin de asegurar la fertilización, cada pez macho, como lo hacen los de otras especies de vertebrados,

produce enormes cantidades de espermatozoides, los cuales son inmóviles en el túbulo seminífero hasta que se reúnen con la secreción de los conductos espermáticos. El tiempo de vida de los espermatozoides varía considerablemente según la especie y el sustrato en que son depositados, así como a la temperatura, ya que por lo general viven más tiempo cuando las temperaturas son bajas, lo que ha permitido preservarlos con éxito mediante la congelación (Lagler *et al.*, 1984).

Ovarios

Al igual que los testículos, los ovarios también son estructuras pares, internos y usualmente longitudinales (Figura 4). Están suspendidos por tejido conjuntivo de la parte superior de la cavidad del cuerpo por un par de mesenterios (mesovarías) (Figura 5), cuando existe una vejiga gaseosa, se les puede localizar directamente debajo de éste órgano. El tamaño y la distribución de los ovarios en la cavidad del cuerpo depende del estado de maduración de la hembra y pueden llegar a comprender el 70% del peso total del pez. El color de los ovarios cambia de blanquecino en los jóvenes, a verdoso cuando son inmaduros y amarillo oro en los adultos maduros. El ovario está constituido por ovogonias, ovocitos y células foliculares alrededor, tejido de soporte o estroma y tejido nervioso y vascular (Billard *et al.*, 1982 citado por Nagahama, 1983).

La mayoría de los teleósteos presentan desoves cíclicos, por lo que los ovarios tienen diferente apariencia durante el ciclo. Se describen tres tipos de desarrollo de los ovarios, los que se han clasificado según el patrón de desarrollo de los ovocitos: 1) El sincrónico, cuando todos los ovocitos se encuentran en la misma etapa de desarrollo; 2) El sincrónico por grupos, cuando al menos dos poblaciones de ovocitos se encuentran en diferente etapa y 3) los asincrónicos, en donde el ovario contiene ovocitos en todas las etapas de desarrollo. (Redding & Patiño, 1993) que es característica de la especie *Oreochromis niloticus* en la que se realizó este estudio.



Figura 4. Posición de los ovarios en peces

La ovogénesis es el proceso de desarrollo del ovocito en los ovarios, durante la cual las células epiteliales de la granulosa envolvente le proveen al ovocito en desarrollo de cantidades relativamente grande de material alimenticio conservado en forma de yema granular (proteína) y grasa, generalmente en forma de pequeñas gotas de aceite (Lagler *et al.*, 1984).

El ritmo fisiológico interno de la maduración gonadal que relaciona las interacciones pituitario-gonadales, es ajustado de tal modo que asegura la aparición de las actividades sexuales cuando las condiciones ambientales sean más favorables para la supervivencia de la cría. Los cambios que ocurren en la duración del día solar (fotoperiodo) y la temperatura afectan el ritmo de la maduración gonadal y el desove del pez en la zona templada y las latitudes altas. Otros factores extrínsecos que pueden afectar a la reproducción son la presencia del sexo opuesto, las corrientes, la marea, el aspecto de la luna y las facilidades para desovar (Lagler *et al.*, 1984).

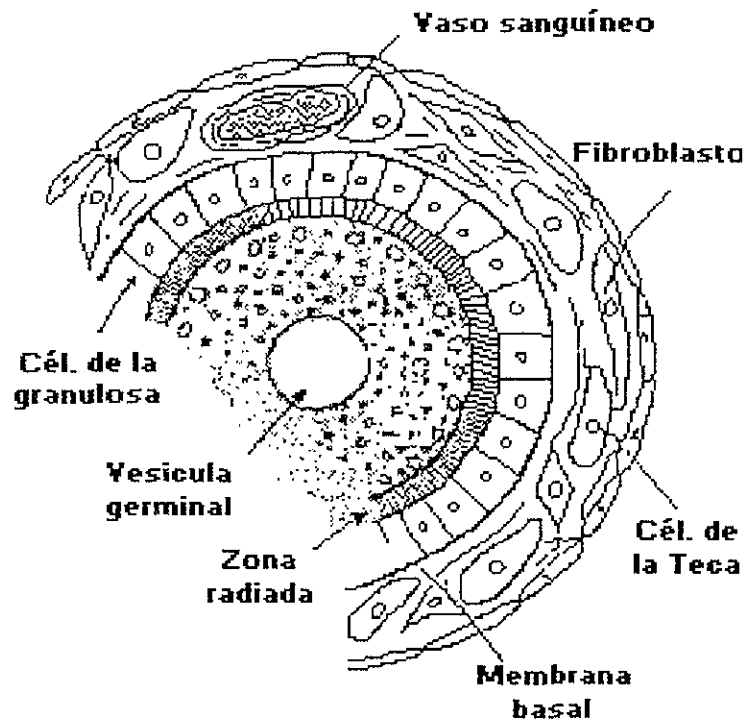


Figura 5. Corte transversal de un ovario de tilapia tomado de Nagahama, 1983.

En los peces, la maduración y la formación de gametos requieren la presencia de las hormonas sexuales producidas por células especializadas de los ovarios y los testículos en concentraciones dadas que dependen de las hormonas gonadotrópicas provenientes de la hipófisis (Lagler *et al.*, 1984).

Los ovarios producen estrógenos, progesterona e inhibina entre otras. Los estrógenos estimulan el desarrollo de los órganos sexuales secundarios, el crecimiento folicular, la síntesis de receptores a progesterona y regulan de manera inhibitoria la secreción de las gonadotropinas, la progesterona estimula la conducta sexual y la secreción en algunos órganos sexuales secundarios. La inhibina, es producida por los folículos ováricos y las células de Sertoli, y su función es inhibir la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) (Lagler *et al.*, 1984).

La producción de estrógenos por el ovario es estimulada por la FSH y la hormona luteinizante (LH). La LH estimula la producción de andrógenos y la FSH y la LH estimulan la aromatasa, enzima que convierte a los andrógenos aromatizables en estrógenos (Dominguez *et al.*, 1991). El mantenimiento del cuerpo luteo en las especies que lo tienen y la producción de progesterona son estimulados por la LH y en algunos animales también se requiere la prolactina. A la prolactina se le han atribuido diversas funciones en los vertebrados, como son la regulación del balance de agua y electrolitos y la promoción del crecimiento, el desarrollo de la glándula mamaria y la producción de leche, incluso efectos antigonadotrópicos (Baiza, 1988).

Según Lagler *et al.* (1984), en los peces existe sólo una gonadotropina funcional, a la cual se le denomina "Piscine Pituitary Gonadotropin (PPG)" la cual posee las propiedades que en los mamíferos están atribuidas a dos hormonas, LH y FSH. Susuki *et al.*, (1988) identificaron en el salmón dos tipos de gonadotropinas ricas en carbohidratos (GtH I y GtH II), las cuales a pesar de ser químicamente distintas estimulan la secreción de estradiol del ovario. Kawauchi *et al.*, (1989) mencionan que la GtH II es más potente al estimular la maduración en el salmón.

La LH de los mamíferos, en los peces promueve la liberación de los gametos de las gónadas casi maduras y estimula la aparición de los caracteres sexuales secundarios, a partir de lo que se infiere que hay una hormona similar en los peces. Efectos similares se describen para la gonadotropina coriónica humana (hCG) y la de orina de yegua preñada (PMSG), ya que promueven la liberación de los óvulos en los peces. La evidencia de la existencia de una FSH en los peces, segunda hormona gonadotrópica conocida de la glándula pituitaria del mamíferos, descansa hasta donde se sabe, en el ensayo patrón para el FSH de los mamíferos, realizado con extractos de la pituitaria del pez. Estos ensayos sin embargo, no proporcionan una prueba de la existencia de una segunda hormona gonadotrópica en la pituitaria de los peces (Lagler *et al.*, 1984).

EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADA

La secreción hormonal de las gónadas es regulada por diversos mecanismos, uno de los cuales implica una serie de interacciones funcionales entre el hipotálamo, la hipófisis y otras glándulas. En el caso de las gónadas, se le define como EJE HIPOTÁLAMO HIPÓFISIS GÓNADAS (Figura 6).

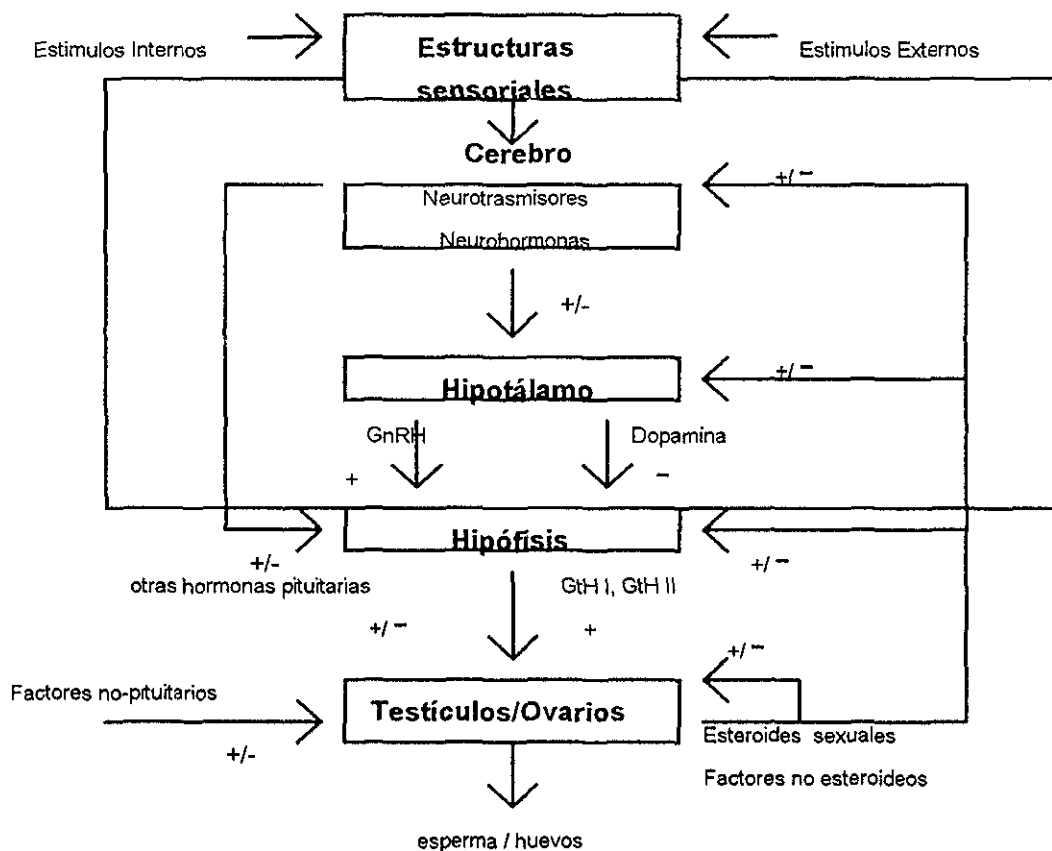


Figura 6. Factores internos y externos que afectan el Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónadas (tomado de Redding & Patiño, 1993).

El control central del sistema endócrino y sus interrelaciones con el sistema nervioso están mediados principalmente por la glándula hipófisis. Las conexiones nerviosas desde el cerebro controlan la liberación de hormonas de la neurohipófisis y del lóbulo intermedio, así como de la eminencia media (parte del hipotálamo). Esta región del

cerebro está conectada con la adenohipófisis por pequeños vasos sanguíneos, el sistema portal hipotálamo-hipofisario. Los productos neurosecretorios de las terminaciones nerviosas de la eminencia media son descargados en estos vasos y de ahí llevados a la adenohipófisis, donde tienen un papel predominante en el control de la secreción de las hormonas hipofisarias, la información neural que proviene tanto del ambiente interno como externo es transferida a la hipófisis (Goldstein, 1982).

HIPOTÁLAMO

El hipotálamo, una de las regiones más estudiadas del cerebro tanto en peces óseos como en todas las clases de vertebrados superiores, está limitado dorsalmente por el tálamo, rostralmente por el quiasma óptico y caudalmente por los cuerpos mamilares (Figura 7). El hipotálamo medio basal, comprendido por el núcleo ventromedial (NVM), núcleo arcuato (NAC) y la eminencia media (EM) ha sido denominado como "El Hipotálamo Endócrino" por sus funciones neuroendócrinas (Brown, 1994). Externamente el hipotálamo está limitado en dirección rostral por el quiasma óptico, hacia atrás por los cuerpos mamilares. La zona que forma el piso del tercer ventrículo se denomina eminencia media del tuber cinereum. La porción rostral al tallo infundibular contiene la eminencia media anterior; la porción posterior al tallo infundibular forma la eminencia media posterior. Las eminencias laterales pares forman límites bien definidos, la saliente ventral del hipotálamo y el receso del tercer ventrículo forman el infundíbulo, la porción más distal del proceso infundibular es la neurohipófisis; el tejido que une el proceso infundibular a la eminencia media se denomina tallo o tronco infundibular. La eminencia media representa el punto final de convergencia de las vías del sistema nervioso central en el sistema endócrino periférico.

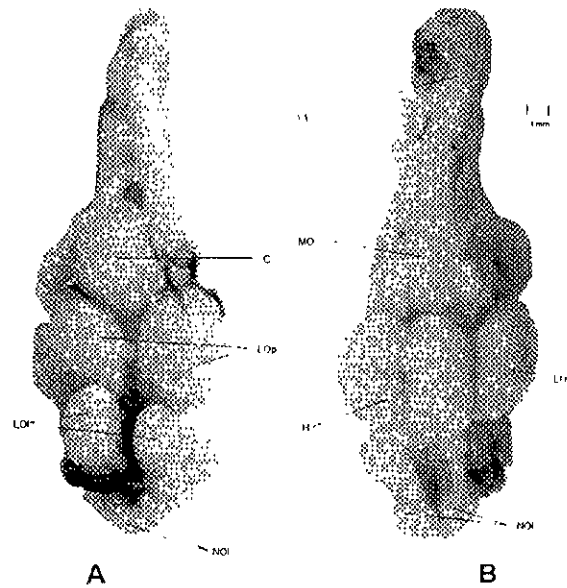


Figura 7. Cerebro de *Oreochromis niloticus*. A vista dorsal y B vista ventral. NOI, Nervio olfatorio; LOI, Lóbulo olfatorio; LOp, Lóbulo óptico; H, Hipotálamo; C, cerebelo; MO, Médula oblongada; CE, Cordón espinal.

El hipotálamo envía fibras de proyección hacia la hipófisis, formadas por los axones de las neuronas de los núcleos paraventricular (NPV) y supraóptico (NSO). Las terminales de estas fibras constituyen la neurohipófisis.

El hipotálamo es una estructura rica en neuronas conocidas como neurosecretoras que producen y liberan hormonas que regulan la función hipofisiaria, mientras que su secreción es regulada por otras neuronas. Además de la síntesis de hormonas el hipotálamo se encarga de: 1) regular el sistema nervioso autónomo, el cual controla las funciones viscerales; 2) controla el mecanismo de regulación de la temperatura del cuerpo; 3) controla el "reloj biológico" quien determina muchos de los ritmos biológicos; 4) regula el balance de electrolitos y 5) controla la conducta emocional (hambre, sed, agresión, conducta sexual). En muchos pero no en todos los teleosteos, las neuronas que se originan en el hipotálamo llegan a la pituitaria y tienen un control directo sobre sus funciones (Brown, 1994).

El hipotálamo de los teleosteos contiene dos tipos de fibras neurosecretoras: fibras tipo "A" que se cree son peptidérgicas y fibras tipo B que son aminérgicas. Asimismo, se han descrito varios núcleos en el hipotálamo, los cuales se encuentran relacionados con la

regulación de la función adenohipofisiaria y en la producción de hormonas neurohipofisiarias.

En los vertebrados inferiores se observan dos formas en los que las catecolaminas regulan las funciones de las células adenohipofisarias:

- 1) Directamente como factores liberadores o inhibidores.
- 2) Mediante la liberación de péptidos que actúan como hormonas reguladoras de los productos hipofisarios.

El cerebro anterior medio (MFB) es el más importante sistema fibroso, que conecta al hipotálamo con el sistema límbico por diversas vías, tanto ascendentes como descendentes, además de contener fibras que comunican la parte rostral y caudal del sistema límbico. En el cerebro anterior medio se pueden distinguir dos partes:

- 1) La parte media es rica en células, por lo que se le llama núcleo preóptico, provienen de la región preóptica de la parte posterior del septum y particularmente de las estrias terminales.
- 2) La parte lateral pobre en células, por donde las fibras solo pasan por la región preóptica.

El hipotálamo de los peces contiene masas celulares bien definidas y parece ser el centro de mayor confluencia de información proveniente de la eminencia media y lateral del cerebro anterior, además de las terminales en el área preóptica del tálamo. Las fibras nerviosas de la región gustativa y las del sistema acústico lateral ascienden al hipotálamo.

Las primeras hormonas hipotalámicas que se conocieron fueron: la oxitocina y la vasopresina extraídas de la neurohipófisis. La oxitocina actúa sobre las células contráctiles en la glándula mamaria y estimula la emisión de leche. También actúa sobre la musculatura uterina; durante el coito esto favorece el transporte de los espermatozoides y durante el parto es imprescindible para la salida del feto. En los peces estimula la ovoposición (Baiza, 1988).

La vasopresina u hormona antidiurética (ADH) estimula la absorción de agua por el riñón, lo que se traduce en la disminución del volumen urinario. Administrada en dosis

altas puede provocar hipertensión arterial. La arginina-vasotocina tiene efecto diurético en peces óseos y peces pulmonados y antidiurético en tetrápodos (Baiza, 1988).

Existen nueve hormonas hipotalámicas que regulan la liberación de las hormonas adenohipofisarias. Tres de ellas (Prolactina "PRL", Hormona de crecimiento "GH" y Hormona estimulante de los melanositos "MSH") son controladas por hormonas hipotalámicas pareadas, una estimuladora (liberadora) y una inhibitoria. Las otras cuatro (Hormona estimulante de la tiroides "TSH", Hormona adrenocórtico-tropina "ACTH", Hormona luteinizante "LH" y Hormona estimulante de los folículos "FSH") son reguladas sólo por hormonas liberadoras hipotalámicas (Brown, 1994).

Las hormonas hipotalámicas son secretadas por células neuroendócrinas localizadas en núcleos hipotalámicos diferentes. Estas neurohormonas son:

Hormona liberadora de la tirotrófina (TRH). Su secreción es regulada por neurotransmisores catecolaminérgicos y neuropéptidos. Su liberación es estimulada por factores ambientales; también estimula la secreción de prolactina (Brown, 1994).

Hormona liberadora de la corticotropina (CRH). Estimula la liberación de ACTH por las células corticotrofas. Actúa como un neuromodulador en el cerebro. Su secreción es regulada por neurotransmisores y neuropéptidos (ejem. acetilcolina, serotonina, histamina y opiodes) (Brown, 1994).

Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH). Estimula la liberación de la LH y FSH. Su liberación es regulada por neurotransmisores y neuropéptidos los que pueden interactuar con esteroides gonadales, además de que la secreción de las gonadotropinas puede ser influenciada por estímulos internos y externos (ritmo circadiano, feromonas, estres).

Hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GH-RH) o somatocrina, hormona inhibitoria de la liberación de la hormona del crecimiento (GH-RIH) o somatostatina (SOM). La secreción de estas hormonas es regulada por neurotransmisores catecolaminérgicos y serotoninérgicos, además de un gran número de neuropéptidos (Brown, 1994).

Factor liberador de la prolactina (PRF). La secreción de la prolactina de las células lactotrofas de la adenohipófisis es estimulada por PRF e inhibida por el factor inhibitorio de la prolactina (FIP). La dopamina es el principal factor inhibitorio de la prolactina el cual es liberado directamente al sistema porta hipofisiario. El neurotransmisor inhibitorio GABA también actúa como un factor inhibitorio de la prolactina (Brown, 1994).

Factor inhibitorio y factor liberador de la hormona estimulante de los melanocitos (MSH). La hormona estimulante de los melanocitos es liberada de las células melanotropas de la pars intermedia por el factor liberador de la hormona estimulante de los melanocitos (MSH-RIF). Parte de la molécula de la oxitocina puede actuar como un factor liberador de la MSH, mientras que la dopamina actúa como un factor inhibitorio de la MSH similar a la acción inhibitoria de la prolactina (Brown, 1994).

HIPÓFISIS

La hipófisis o pituitaria está localizada en la base del cerebro por debajo del hipotálamo y unida a éste por el tallo hipofisiario. Se localiza dentro de una depresión ósea del esfenoideas conocida como silla turca. Está dividida en tres partes: el lóbulo anterior (pars distalis), el lóbulo intermedio (pars intermedia) y el lóbulo posterior (pars nervosa). El lóbulo anterior y el intermedio forman una glándula endócrina verdadera la **adenohipófisis**, (constituida de la pars tuberalis, pars intermedia y pars distalis), es una glándula endócrina de tipo cordonal y se origina embriológicamente de una invaginación del endodermo del estomodeo (Bolsa de Rathke). El lóbulo posterior, llamado **neurohipófisis**, (constituido por la pars nervosa y la eminencia media), contiene la terminación de axones de los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo, embriológicamente es de origen neuroectodérmico derivado de una evaginación ventral del diencefalo (infundíbulo) (Balsa, 1988), es realmente una extensión del hipotálamo que contienen a su vez los axones de las células neurosecretoras hipotalámicas, cuyos somas se encuentran localizados en el núcleo paraventricular (NPV) y el núcleo supraóptico (NSO) de el hipotálamo (Brown, 1994), (Figura 8).

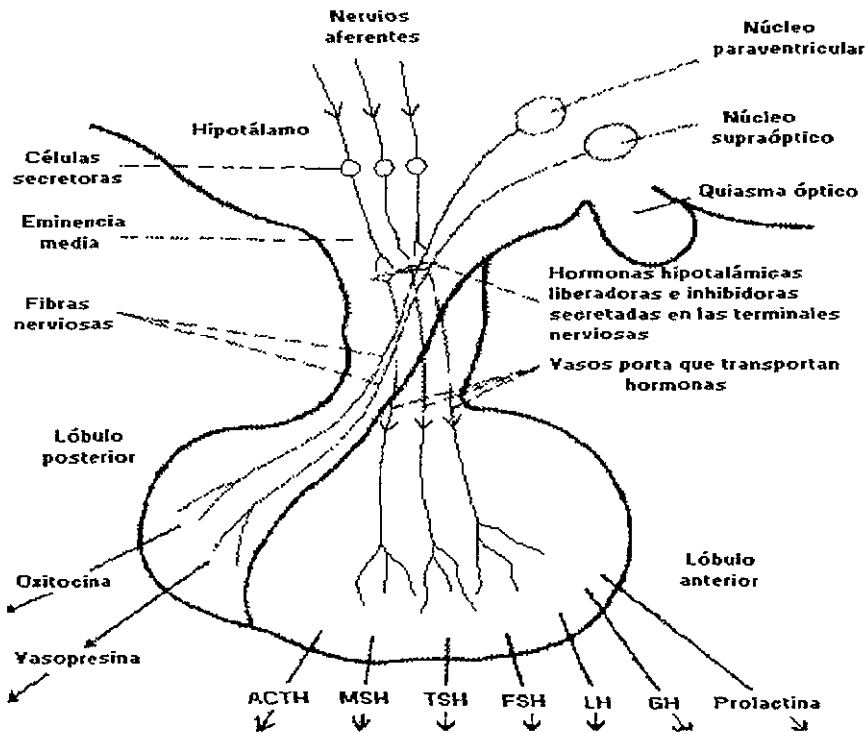


Figura 8. Control hipotalámico de la hipófisis (tomado de Goldstein, 1982).

La función de las hormonas hipofisiarias fue inferida por Smith y Engle (1927) quienes observaron que la extirpación de la hipófisis causa detención del crecimiento y regresión de las gónadas, o éstas no se desarrollan cuando se efectúa en animales inmaduros. Estas modificaciones son revertidas por el reimplante de la hipófisis en su sitio original, indicando que ésta es esencial para el funcionamiento de otras glándulas. Las hormonas de la adenohipófisis han sido denominadas colectivamente trópicas o tróficas, ya que varias de ellas tienen influencia en la actividad de otras glándulas endocrinas.

Existen varias hormonas que se sintetizan y liberan de la pars distalis, algunas de ellas son:

Hormona de crecimiento o somatotropina. Tiene efectos metabólicos sobre músculos, células adiposas y otros tejidos, por lo que promueve el crecimiento en todas las células del cuerpo.

Hormona luteinizante. En las hembras estimula la síntesis de estrógenos, progesterona y andrógenos, así como la ovulación y la formación del cuerpo lúteo y en los machos estimula las células de Leydig que secretan andrógenos y testosterona.

Hormona estimulante de los folículos. Promueve el desarrollo de los gametos y la secreción de estrógenos. En las hembras las hormonas FSH y LH, actúan sobre los ovarios donde estimulan el crecimiento de los folículos y la liberación de los ovocitos (ovulación). Su liberación es estimulada por la hormona liberadora de las gonadotropinas (LHRH o GnRH) del hipotálamo. Ambas hormonas son necesarias para regular la secreción de estrógenos. Después de la ovulación, el folículo degenera en cuerpo lúteo, el cual secreta estrógenos y progesterona (Satya, 1993).

En el macho, la FSH y la LH actúan sobre los testículos en donde se localizan las células de Sertoli (túbulos seminíferos) que producen los espermatozoides y las células de Leydig. LH estimula las células de Leydig para sintetizar testosterona. La testosterona promueve el crecimiento y es necesaria para mantener la secreción normal de las glándulas accesorias en el macho. El desarrollo de las características sexuales secundarias está regulado por FSH y LH, las cuales actúan sobre las gónadas para estimular la esteroidogénesis (Blake, 1984).

Prolactina (PRL). Similar a la hormona que influye en la lactación de los mamíferos, es producida en la proadenohipófisis. En unión con la intermedia, promueve la formación de melanina en los melanóforos de la piel de algunos peces. En los teleósteos, la prolactina es una de tantas hormonas implicadas en la regulación electrolítica y en algunos peces se ve reducida la permeabilidad de las branquias (actividad retenedora de sodio en los teleósteos). Su importancia en el mantenimiento de la homeostasis parece variar con las especies (Goldstein, 1982).

Hormona estimulante de la tiroides (TSH). Estimula la síntesis y liberación de tiroxina y triyodotironina.

Hormona adrenocórtico-tropina (ACTH). Estimula la síntesis y liberación de hormonas glucocorticoides en la corteza adrenal (localizada difusamente en el riñón de los peces), tiene también efecto estimulante en la producción melánica de ciertos peces.

Hormona estimulante de los melanocitos. Esta hormona se sintetiza en la pars intermedia, que actúa sobre los melanóforos de los anfibios para el cambio de piel (metamorfosis).

NEUROTRANSMISORES

Las catecolaminas, dopamina, noradrenalina y adrenalina son neurotransmisores, neurohormonas ó ambas del sistema nervioso central y periférico. La noradrenalina es el principal neurotransmisor simpático posganglionar. La dopamina es el precursor de noradrenalina y tiene su actividad biológica en la periferia, mas particularmente en el riñón y sirve como un neurotransmisor importante de varios procesos en el sistema nervioso central, la estructura molecular de éstos dos neurotransmisores consiste de un anillo catecol (anillo de benceno con dos grupos hidroxilo) y una cadena con un grupo amino (NH_2). Existen dos indolaminas la serotonina ó 5-hidroxitriptamina (5-HT) cuya estructura principal es un anillo indol con un grupo hidróxilo y un grupo amino en el extremo de una cadena; y la melatonina, hormona secretada en la glándula pineal. En el proceso relacionado con la síntesis de monoaminas intervienen varias enzimas, de las que se mencionará en forma general como intervienen (Figura 9). (Adler, 1981; Brown, 1994).

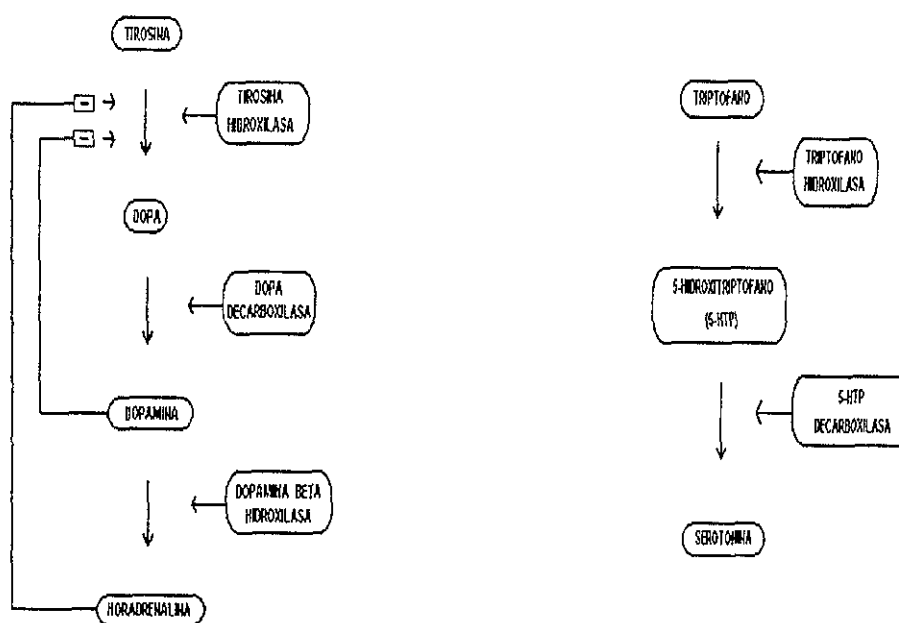


Figura 9. Síntesis de las catecolaminas (Dopamina y Noradrenalina) y de la indolamina (serotonina).

La tirosina hidroxilasa (TH) es un homotetrámero y cada una de sus subunidades tiene un peso molecular aproximado de 60 kDa. En el proceso de catálisis agrega un grupo hidróxilo a la posición meta de la tiroxina y forma la 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-dopa). Esta enzima también puede hidroxilar a la fenilalanina y formar tirosina, que después será convertida a L-dopa. TH tiene un k_m para tirosina en el rango de micromolar, es soluble y se localiza en el citosol de las neuronas que contienen catecolaminas.

En comparación con L-dopa, la dopa decarboxilasa (DDC) tiene un k_m bajo y un V_m alto, de este modo L-dopa es eficientemente convertida a Dopamina. La DDC también puede decarboxilar 5-hidroxitriptofano, el precursor de serotonina, además de otros aminoácidos aromáticos. Se encuentra distribuida en todo el cuerpo en las neuronas que contienen catecolaminas y serotonina, además de tejidos no neurales como el riñón y vasos sanguíneos.

La dopamina β -hidroxilasa (DBH), al igual que TH, tiene una función oxidativa en la que emplea el oxígeno molecular para formar el grupo hidróxilo y agregarlo al grupo β -carbón. DBH es una glicoproteína tetramérica que contiene subunidades de 77 a 73 kDa, esta enzima se encuentra almacenada en las vesículas que tienen catecolaminas y es liberada junto con las catecolaminas de las terminales nerviosas y de la glándula adrenal encontrándola finalmente en el plasma.

Las catecolaminas están concentradas en vesículas de almacenamiento presentes en alta densidad en las terminales nerviosas presinápticas, catecolaminas que al ser liberadas al espacio presináptico son metabolizadas ó desactivadas por enzimas como la monoamina oxidasa (MAO) ó catecol-O-metil transferasa (COMT), por lo que la conversión de tirosina a L-dopa y de L-dopa a dopamina ocurre en el citosol. Las vesículas juegan un doble papel: 1) mantienen a las catecolaminas en las terminales presinápticas para ser liberadas y 2) se encargan de regular el proceso de liberación. Cuando un potencial de acción llega a la terminal nerviosa, los canales de Ca^{2+} se abren permitiendo que el catión entre a la terminal, incrementando por la tanto la concentración intracelular y se promoviendo la fusión de vesículas con la membrana neural, momento en el que las vesículas descargan su contenido soluble NA, ATP y DBH al espacio extraneural.

La serotonina (5-HT) es sintetizada a partir del amino ácido triptofano en el sistema nervioso central y sobre el cual actúa una enzima (triptofano hidroxilasa). La hormona melatonina es sintetizada a partir del triptofano, vía serotonina en la glándula pineal de varios vertebrados y a menudo se ha sugerido que tiene función hormonal (Adler, 1981). Los cuerpos celulares de las neuronas que secretan serotonina se encuentran principalmente en la línea media de la región del raphe y el sistema reticular de la medula, pons y tallo cerebral superior (Brown, 1994).

La NA, DA y 5-HT conocidas como monoaminas (compuestos que contienen un grupo amino). las cuales son sintetizadas a partir de amino ácidos. La NA y DA son catecolaminas sintetizadas a partir de tirosina en la medula adrenal, de donde son secretadas como hormonas y en el sistema nervioso central y periférico donde actúan como neurotransmisores.

Algunos de los neurotransmisores y neurohormonas que afectan la función del hipotálamo o hipófisis *in vitro* son dopamina y norepinefrina (Yu & Peter, 1992), serotonina (Somoza & Peter, 1991) citados por Evans, (1993). La concentración de dopamina y serotonina en el tejido cerebral cambia durante los ciclos reproductivos anuales de algunos peces (Saligaut *et al.*, 1992b), lo que refleja una dependencia directa o indirecta de los procesos neurofisiológicos dados por las condiciones ambientales.

Existe evidencia de que la noradrenalina (NA) estimula la secreción de gonadotropinas GtH (Chang & Peter, 1984) y que la dopamina (DA) actúa como un factor inhibitorio de la secreción de gonadotropinas para inhibir directamente la liberación espontánea y modular la acción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) en la glándula hipofisiaria (Peter *et al.*, 1986; Guerrero *et al.*, 1990; Groves & Batten, 1986; Crim, 1981; Chang *et al.*, 1983), y la serotonina (5-HT) incrementa la síntesis y liberación de GtH (Groves & Batten, 1986). Además de que en algunas especies de peces, la concentración de dopamina y serotonina en el tejido cerebral cambia durante los ciclos reproductivos anuales (Saligaut *et al.*, 1992b), lo que refleja una dependencia directa o indirecta de los procesos neurofisiológicos dados por las condiciones ambientales.

La hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) es el regulador primario de la liberación de las hormonas gonadotrópicas (GtH), sin embargo, otras moléculas presentes en el hipotálamo y la hipófisis también afectan su liberación. Esto es, la norepinefrina estimula la liberación de GnRH del hipotálamo (pero no la hipófisis), mientras que la serotonina estimula y la dopamina inhibe la liberación de dicha hormona en ambas glándulas *in vitro* (Yu *et al.*, 1991b; Yu & Peter, 1992).

Se tiene evidencia de que inyecciones intracraneales de Noradrenalina (5 a 50 ng) en el núcleo preóptico paraventricular en el pez dorado tienen respuesta dosis dependiente a decrecer en la selección de la temperatura adecuada, por lo que se sugiere que el núcleo preóptico paraventricular (NPP) es un locus importante en la integración termoregulatoria y que la liberación de NA los induce a buscar el agua fría. Resultados similares se obtuvieron al aplicar DA (25 a 250 ng) (Wollmuth *et al.*, 1987) (Figura 10).

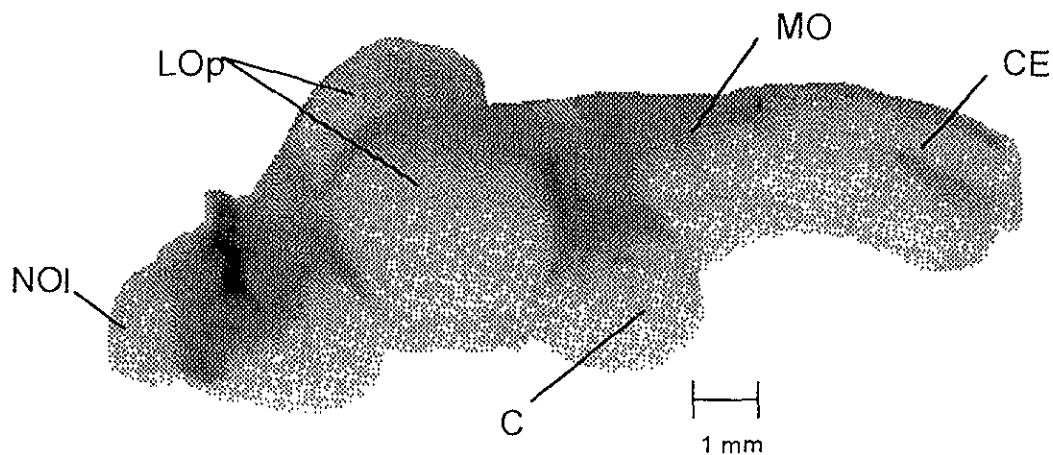


Figura 10. Vista lateral del cerebro de *Oreochromis niloticus*. NOI, nervios olfatorios; LOp, Lóbulos ópticos; C, Cerebelo; MO, Médula oblongada; CE, Cordón espinal.

REGULACIÓN DE LA REPRODUCCIÓN

La secreción de la GnRH es de tipo pulsátil. Se ha mostrado que la duración y amplitud de los pulsos de GnRH presentan ciclos circádicos y circa-anales que están regulados por sistemas de neurotransmisión que ejercen efectos estimulantes e inhibitorios sobre la síntesis y liberación hormonal (Dominguez, 1993). En los mamíferos, las aves y los reptiles las neuronas que secretan la GnRH se encuentran localizados principalmente en dos zonas de hipotálamo: el núcleo ventromedial y la región preóptica-hipotalámica anterior. En los peces se ha mostrado la existencia de neuronas GnRHérgicas localizadas en varias regiones del hipotálamo (Shivers y col. 1983; Krey & Silverman 1983). Existe poca información sobre los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de las gonadotropinas en los peces y si existen diferencias sexuales en los mismos (Liley & Stacey, 1983). Además de que tampoco se conoce la participación de los diferentes sistemas de neurotransmisión en estos procesos, ó si los factores ambientales juegan algún papel en la diferenciación sexual y maduración de estos mecanismos. Al parecer, en los peces el sistema catecolaminérgico sensible a la

reserpina actúa como un modulador inhibitorio de la secreción gonadal (Chang y col. 1983). Este hecho es muy importante porque en los mamíferos estos sistemas regulan la secreción de las gonadotropinas y el crecimiento y la diferenciación gonadal de manera estimulante (Freeman 1988; Everet, 1988; Knobil & Hotchkiss, 1988).

Aunado a esto, existen nueve formas de GnRH (secuencia de amino ácidos) que se han aislado e identificado en diferentes animales (mamíferos, anfibios, aves y teleósteos). El GnRH de mamíferos (mGnRH), fue la primer forma descrita y se encuentra presente en todos los mamíferos analizados, así como también en anfibios y un buen número de peces óseos primitivos. La segunda forma de GnRH fue aislada del cerebro de pollo (cGnRH-I y cGnRH-II); la GnRH-II está presente en todos los vertebrados examinados excepto para el agnato y mamíferos placentarios. El primer GnRH de teleósteos aislado fue de un salmón (sGnRH) y su distribución se ha extendido en otras especies de teleósteos. Otras variantes de GnRH fueron encontradas en el pez gato (catfish) (cfGnRH), pez perro (dogfish) (dfGnRH) y lampreas (lGnRH-I y lGnRH-III). La última en ser aislada y caracterizada proviene de un pez perciforme, la brema de mar (seabream, *Sparus aurata*) (sbGnRH), esta forma fue encontrada en otros peces del orden de los Perciformes: incluyendo (*Morene saxatilis*), cíclido africano (*Haplochromis burtoni*), y pumpkinseed (*Lipomis gibbosus*). (Gothilf et al., 1996).

Según Powell et al., (1994) el número de formas de GnRH en la hipófisis varía con la especie y menciona que la forma simple de sGnRH, se localizó en la hipófisis del salmón (Okuzawa et al., 1990 y Amano et al., 1992), la sGnRH y cGnRH-II se localizó en la hipófisis del pez dorado (Yu et al., 1992), las cuales son potentes liberadores de gonadotropinas hipofisarias tanto *in vitro* como *in vivo*. Además, Zohar y colaboradores (1995), mostraron que en el cerebro de hembras adultas de la brema de mar se encuentran tres formas de GnRH (sGnRH, cGnRH-II y sbGnRH) con actividad en la estimulación de gonadotropinas y que la forma más abundantes en la hipófisis de la brema madura (sbGnRH) es mucho menos potente que la sGnRH ó cGnRH-II para la liberación de la GtH-II (LH).

Tabla 1. Secuencia de aminoácidos de las diferentes formas de GnRH conocidas. La estructura de las nueve formas de GnRH conocidas se presentan con la nomenclatura convencional aceptada (péptidos de las GnRH son nombrados para las especies de las cuales fueron aisladas primeramente. Las diferentes formas son listadas en orden de similitud a la GnRH de los mamíferos. Los aminoácidos diferentes son resaltados en letras oscuras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10												
BREMA DE MAR	p	GLU	-	HIS	-	TRP	-	SER	-	TYR	-	GLY	-	LEU	-	SER	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂
MAMÍFERO	p	GLU	-	HIS	-	TRP	-	SER	-	TYR	-	GLY	-	LEU	-	ARG	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂
POLLO-I	p	GLU	-	HIS	-	TRP	-	SER	-	TYR	-	GLY	-	LEU	-	GLN	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂
PEZ GATO	p	GLU	-	HIS	-	TRP	-	SER	-	HIS	-	GLY	-	LEU	-	ASN	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂
SALMÓN	p	GLU	-	HIS	-	TRP	-	SER	-	TYR	-	GLY	-	TRP	-	LEU	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂
POLLO-II	p	GLU	-	HIS	-	TRP	-	SER	-	HIS	-	GLY	-	TRP	-	TYR	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂
PEZ PERRO	p	GLU	-	HIS	-	TRP	-	SER	-	HIS	-	GLY	-	TRP	-	LEU	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂
LAMPREA-III	p	GLU	-	HIS	-	TRP	-	SER	-	HIS	-	ASP	-	TRP	-	LYS	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂
LAMPREA-I	p	GLU	-	HIS	-	TYR	-	SER	-	LEU	-	GLU	-	TRP	-	LYS	-	PRO	-	GLY	-	NH ₂

Estudios inmunocitoquímicos y bioquímicos del hipotálamo y la hipófisis de peces revelan la existencia de una o más de cuatro formas de GnRH (Sherwood y Lovejoy, 1989). A pesar de que la presencia de la molécula GnRH-like es bien conocida, su función ha sido estudiada en muy pocas especies. En tratamientos experimentales en salmónidos y ciprinidos con GnRH-like se reportan incrementos en la concentración sanguínea de GtH, esteroides sexuales, además de que promueve la ovulación y espermatogénesis (Donaldson y Hunter, 1983).

FACTORES AMBIENTALES.

El ambiente en donde se desarrollan los peces es un sistema complejo con variaciones en la calidad del agua (composición física y química), movimientos del agua, abundancia y tipo de vegetación acuática, intensidad de luz y periodicidad, temperatura, disponibilidad de alimento e interacción social. Para el caso de especies susceptibles de ser cultivadas, la influencia del hombre es de gran importancia cuando los peces son manipulados para consumo o experimentación, lo que provoca en los peces cambios a nivel reproductivo (Billard *et al.*, 1981).

Para cada especie o grupo de especies que ocupan un nicho ecológico particular, su ciclo de reproducción debe de ser en una estación del año en que exista la cantidad y calidad de alimento para las crías y de esa manera asegurar su supervivencia (Bye, 1984). En regiones templadas, muchos de estos factores presentan ritmos estacionales distintos, en donde los peces que viven en esa región presentan ciclos sincronizados de alimentación, crecimiento y reproducción. En los trópicos, donde predominan los ciclidos, los ritmos estacionales no están bien marcados y el crecimiento tiende a ser continuo (Oduleye, 1982).

a). TEMPERATURA

Las variaciones significativas en la temperatura del cuerpo provocan una serie de cambios por el mantenimiento de las funciones fisiológicas, por lo que dependiendo del mecanismo que utilizan los peces para el mantenimiento de la temperatura corporal éstos se pueden dividir en:

- 1) Endotérmicos. Aquellos que cuentan con mecanismos especializados para la producción y retención del calor metabólico.

2) Poiquilotermos. En los que la temperatura del cuerpo es variable y similar a la temperatura del medio en la que se encuentran, debido a que los peces controlan el estrés térmico por diversos medios.

- a) adaptación conductual
- b) respuesta fisiológica y autonómica a cambios drásticos de temperatura.
- c) aclimatación (durante el tiempo de vida de un individuo) ó adaptación (evolución).

Los dos primeros mecanismos son complementarios y activados en segundos ó minutos, mientras que el tercero requiere algunos periodos de exposición para alterar la temperatura corporal antes de ser efectivos.

El desarrollo sexual y el desove de los peces es modulado por la temperatura y el fotoperiodo, aunque la temperatura tiene una influencia predominante en muchas especies. Por ejemplo, la carpa requiere temperatura cálidas para su reproducción de 20-22°C para una gametogénesis y espermatogénesis continuas. Sin embargo, existe evidencia de que el ritmo estacional de temperatura es necesario para mantener un ciclo reproductivo en algunos ciprínidos (Billard *et al.*, 1978).

b). FOTOPERIODO

Muchas especies presentan cambios estacionales dependientes de la longitud del día (fotoperiodo) como indicador del inicio de una temporada externa para una serie de eventos fisiológicos, lo que resulta en que ciertos eventos (muda, reproducción, incubación) están restringidos a periodos específicos del año. Esta respuesta a la fotoperiodicidad implica la capacidad de los organismos para distinguir entre días cortos y largos y por lo tanto medir el tiempo geofísico (Castañón-Cervantes *et al.*, 1995), medida que parece estar basada, al menos en algunas especies en los ritmos endógenos sensibles a la luz y particularmente los ritmos circádicos (Hoffmann, 1981).

c). DENSIDAD

Es el efecto competitivo sobre el crecimiento que ocurre cuando las interacciones conductuales entre los peces causan una distribución desigual de un recurso que está relacionado, directa o indirectamente, con el crecimiento. El pez dominante adquiere una mayor proporción del recurso y crece más rápido que si el recurso se hubiese repartido en partes iguales (Wootton, 1990).

En resumen se ha mostrado que éstos factores influyen de alguna manera en el crecimiento y ciclo reproductivo de las especies, independiente de las condiciones que deben de prevalecer para efectuarse dichas actividades. Asimismo, es importante tomar en cuenta que la respuesta que se va a obtener esta en función de la interacción de varias variables, por lo que los resultados pueden ser diferentes a los obtenidos cuando se trabaja controlando una sola variable.

FAMILIA CICHLIDAE

La familia Cichlidae se caracteriza por tener especies de coloración muy atractiva, principalmente las nativas de África, América Central y la parte tropical de Sudamérica.

Los cíclidos se diferencian de la mayoría de los peces de agua dulce por tener sólo un orificio nasal a cada lado de la cabeza que sirve simultáneamente como entrada y salida de la cavidad nasal. El cuerpo es comprimido, a menudo discoidal, raramente alargado. En muchas especies la cabeza del macho es más grande que la de la hembra. La boca es protráctil, generalmente ancha, a menudo bordeada por labios gruesos, las mandíbulas presentan dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos. Presentan membranas branquiales unidas por cinco o seis radios branquióstegos y el número de branquiespinas es variable según la especie. La línea lateral está interrumpida y se presenta generalmente dividida en dos parte: la porción superior que se extiende desde el opérculo hasta los últimos radios de la aleta dorsal y la porción inferior donde aparecen varias escamas por debajo de donde termina la línea superior hasta el final de la aleta caudal. Presentan escamas de tipo cicloide. El número de vértebras varía con la edad y pueden ser de ocho a 40 (Morales, 1991; SEPESCA-UAM, 1994).

Oreochromis niloticus (L.)

Las tilapias alcanzan su madurez sexual entre los cuatro o cinco meses de edad y longitud entre ocho y 16 cm. La frecuencia de desove varía considerablemente dependiendo de los factores ambientales (de seis a 16 veces al año). En México se han observado hasta 10 desoves, del mismo individuo, al año (SEPESCA-UAM, 1994).

La tilapia posee un tipo de reproducción dioica, es decir espermatozoides y óvulos se desarrollan en individuos independientes. Las gónadas se encuentran en posición ventral a lo largo de la columna vertebral y la vejiga natatoria. Los ovarios presentan un tipo de desarrollo asincrónico, mientras que los testículos son de tipo lobular, compuestos de numerosos lóbulos, separados por una delgada capa de fibra de tejido conectivo (Figura 11) (Rodríguez, 1992).

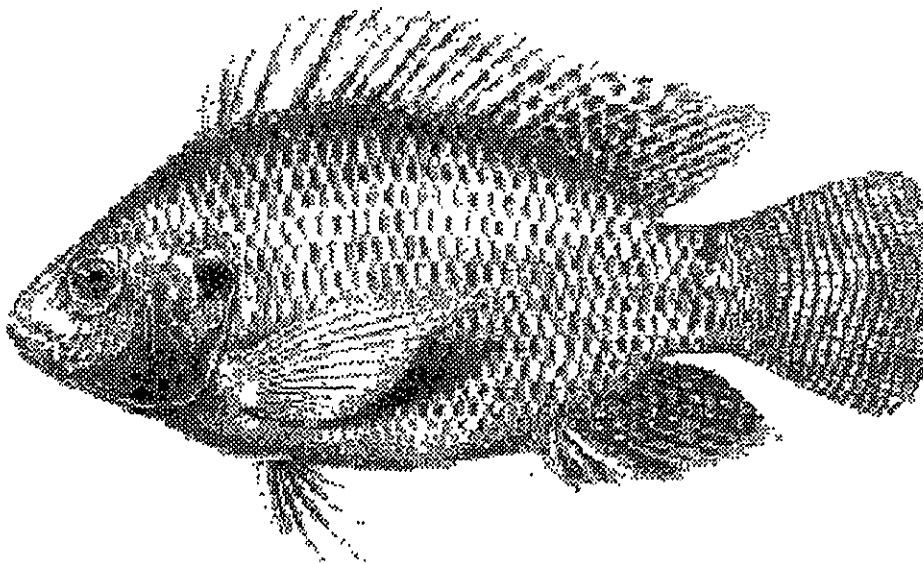


Figura 11. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)

Los hábitos reproductivos y la organización social de las tilapias tienen grandes implicaciones en su cultivo precisamente por el problema que representa su reproducción prolífica. En condiciones de cautiverio, todas las tilapias tienen a producir un mayor número de huevecillos por desove que las poblaciones silvestres; esto es una medida adaptativa para asegurar la sobrevivencia de la especie cuando las condiciones son adversas. Entre las especies que incuban sus huevos en la boca, los machos permanecen en el área de nidación, delimitando y protegiendo su territorio. Éstos

despliegan vistosas coloraciones para atraer a alguna de las hembras que visitan con frecuencia el área de nidación. Finalmente la hembra deposita los huevecillos en el fondo del nido y una vez que éstos han sido fertilizados por el macho, la hembra recoge los huevecillos en su boca y se desplaza hacia algún sitio protegido, donde permanece quieta durante la incubación de los huevos. Al nacer los alevines continúan en la boca de la madre. Al absorber el saco vitelino, los pececillos empiezan a salir de la boca, alejándose cada vez más y regresando a ella en búsqueda de protección (Figura 12). Cuando los alevines han alcanzado una talla de 10 mm, se alejan definitivamente, pero continúan agrupados en busca de alimento y protección, principalmente cerca de las orillas (Aguilera y Noriega, 1991)

La eficiencia de la reproducción de las tilapias tiene consecuencias paradójicas: por una parte las vuelve atractivas para la piscicultura, particularmente en regiones tropicales y en países en desarrollo, dada la facilidad y rapidez de su propagación y por otra parte, causa problemas debido a que en condiciones de cautiverio su incontrolada multiplicación provoca "enanismo" debido a la competencia por alimento y espacio y su maduración sexual se vuelve precoz tanto por factores genéticos como ambientales.

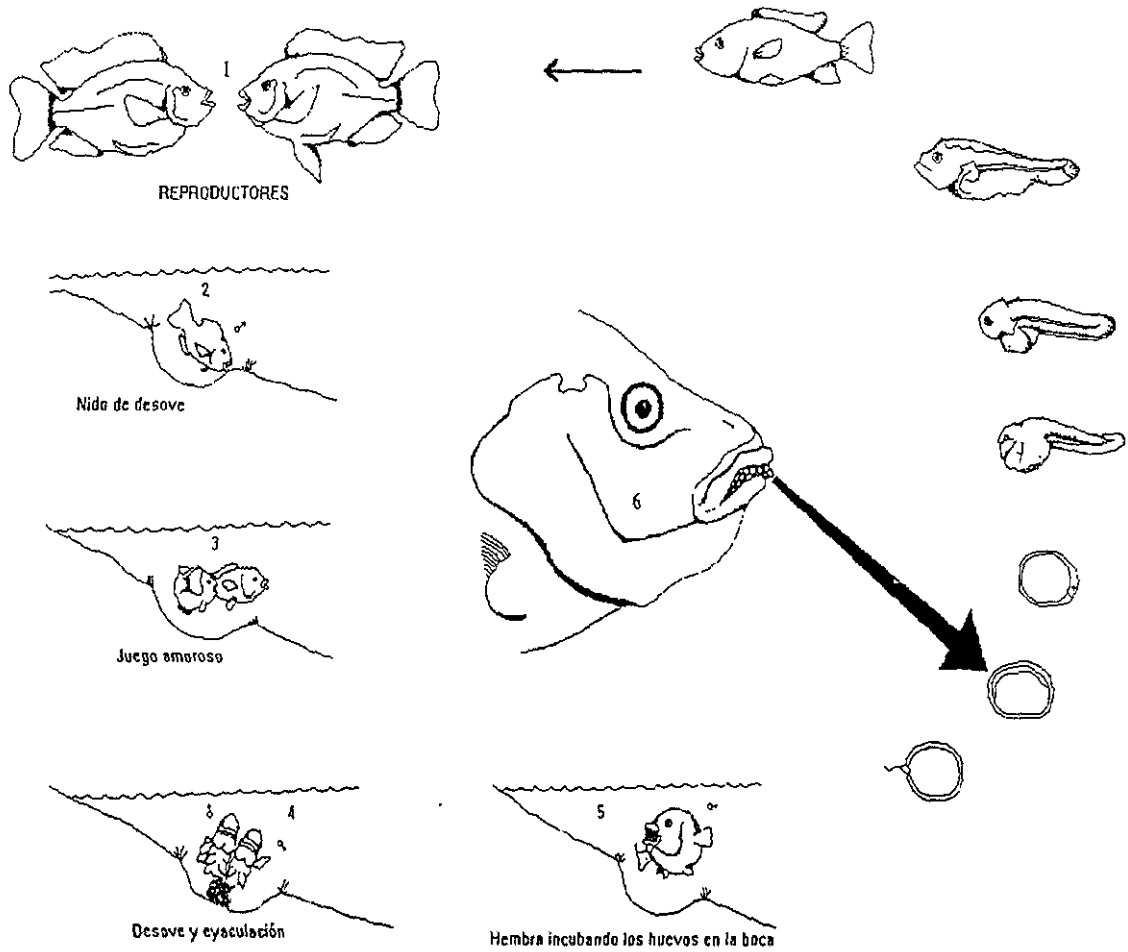


Figura 12. Ciclo biológico y reproducción de *Oreochromis* spp
(Tomado de SEPESCA, 1986).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en lo expuesto anteriormente, se puede considerar que el sistema aminérgico modula los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de la GnRH, las gonadotropinas y el desove. Investigaciones realizadas con antelación se han enfocado al análisis de algunos factores ambientales o bien a conocer el papel de las monoaminas sobre la reproducción, esto de forma independiente, por lo que en la presente investigación se propuso analizar los efectos sobre el crecimiento, la maduración sexual y la actividad monaminérgica de la *Oreochromis niloticus* bajo diferentes condiciones experimentales que involucren cambios en los factores ambientales, tales como: densidad de carga, temperatura y fotoperiodo, características que detienen o desvían la energía encaminada al crecimiento hacia la reproducción.

HIPÓTESIS

La maduración y diferenciación de los mecanismos monoaminérgicos que regulan la secreción de las gonadotropinas y el desarrollo gonadal en la tilapia *Oreochromis niloticus* son diferentes en el macho y en la hembra y dependen de las condiciones del medio ambiente en el que se desarrollan los animales.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la interacción de los factores ambientales y el sistema monoaminérgico en la regulación de la maduración sexual de la tilapia *Oreochromis niloticus*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la influencia de la densidad, fotoperíodo y temperatura sobre el crecimiento en longitud y peso de la tilapia *Oreochromis niloticus*.
- Analizar la respuesta del sistema monoaminérgico frente a diferentes condiciones de luz y temperatura.

MÉTODOS**PROCEDIMIENTO GENERAL**

Se trabajó con crías de tilapia *Oreochromis niloticus* (1.2 cm y 0.1g) proporcionadas por el Centro de Zacatepec, situado al Oeste del Estado de Morelos a 18° 45" latitud Norte y 99° 19" longitud Este a 1050 msnm (INEGI, 1982). Las crías se trasladaron al laboratorio en bolsas de polietileno y se colocaron en peceras de vidrio con capacidad de 30 litros de agua, aireación continua, temperatura de 25°C y suministro de alimento balanceado (50% proteína) *ad libitum*. Transcurridos de 8 a 15 días de aclimatación se distribuyeron al azar en diferentes peceras según el diseño de cada experimento. Se colocaron tres peceras por tratamiento.

PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA

Al inicio y al final de cada experimento, a cada uno de los peces se les tomó su longitud patrón que va de la punta de la mandíbula inferior a donde se localiza el hueso hipoureal, con un ictiómetro de precisión en mm, así como su peso total con ayuda de una balanza de precisión de 0.01 g. Transcurrido el tiempo de experimentación (90 días), los peces se sacrificaron por decapitación entre las 10:00 y las 13:00 h, se extrajeron las gónadas, se identificó el sexo y el grado de desarrollo gonádico por comparación con las tablas propuestas por Holden y Raitt, (1975) (Anexo 1) y se determinó su peso para calcular el índice gonadosomático (GSI, por sus siglas en inglés) (peso de las gónadas/peso del pez x 100). Las gónadas fueron fijadas en solución de Bouin por 24 horas y cambiadas a alcohol al 70% para su conservación. Asimismo, se extrajo el cerebro y se sumergió en solución salina fría, posteriormente se disecó el hipotálamo y se almacenó inmediatamente a -70°C para su posterior cuantificación de monoaminas (Noradrenalina "NA", Dopamina "DA" y Serotonina "5-HT" y sus respectivos metabolitos) por el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés).

PROCEDIMIENTO PARA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.

Cada uno de los hipotálamos fue pesado en una balanza de precisión (0.000 mg) y homogeneizado en 200 μ l de ácido perclórico 0.2 M frío grado HPLC. Posteriormente se centrifugó a 5000 rpm a -4°C durante 30 min, el sobrenadante se pasó a través de una membrana (Millipore, S.A.) de 0.22 μ m de diámetro de poro y finalmente se inyectó una alícuota de 100 μ l al detector del sistema de HPLC. Dicho sistema consistió de una bomba isocrática de flujo constante (Perkin Elmer, Modelo 250), con un loop de 50 μ l. La separación de monoaminas se llevó a cabo en una columna C-18 con partículas de 10 μ y longitud 18 cm x 5 mm de diámetro interno (Perkin Elmer).

El sistema de detección constó de un detector electroquímico (Bioanalytical Systems, LC-4C) con electrodo de plata e integrador LC1-100 (Perkin Elmer). El corrimiento de las muestras fue comparado con el de una solución estándar conocida (estándar externo), que se inyectó al sistema al inicio y final de cada sesión de trabajo.

La fase móvil para el corrimiento de las muestras se preparó de la siguiente forma: 460 ml de agua bidestilada con conductividad de 10.0 $\Omega\text{Oms/cm}^2$, a la que se le agregó 15.75 g de ácido acético y se ajustó a pH de 3 con hidróxido de sodio concentrado, en seguida se le adicionaron 100 mg de ácido 1-octanosulfónico y se aforó a 470 ml, la solución se pasó a través de membranas de 0.2 μ m de diámetro de poro, solución que se desgasificó con helio y al vacío, para finalmente adicionarle 20 ml de acetonitrilo y 13 ml de tetrahidrofurano, se tapó y se conectó al sistema de cromatografía.

Los resultados de longitud, peso 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 comparar las medias de los tratamientos cuando se presentaron diferencias ($p < 0.05$). En las gráficas y tablas se muestra el valor promedio \pm el error estándar de la media (e.e.m.).

RESULTADOS

EXPERIMENTO 1.

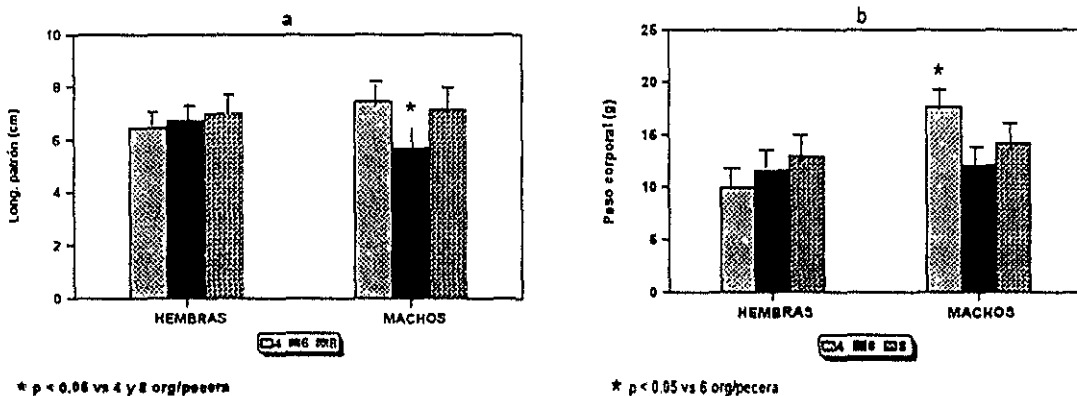
OBJETIVO: Estudiar los efectos de la densidad de carga sobre el crecimiento en longitud, peso corporal, peso de gónadas e índice gonadosomático de *Oreochromis niloticus*, mantenidas a 25°C y fotoperiodo de 12/12 h.

Este experimento se diseñó para analizar si el crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus* es afectado cuando el animal en desarrollo es mantenido a diferentes densidades de carga.

Grupos de cuatro, seis y ocho peces de un mes de edad (2.0 cm y 0.5 g promedio) fueron distribuidos al azar en peceras de 30 litros de agua y 25±1°C y se les mantuvo en esas condiciones durante tres meses (julio-septiembre), tiempo en el que *Oreochromis niloticus* inicia su periodo reproductivo. Al finalizar el experimento, los animales fueron sacrificados como se especificó en el apartado correspondiente.

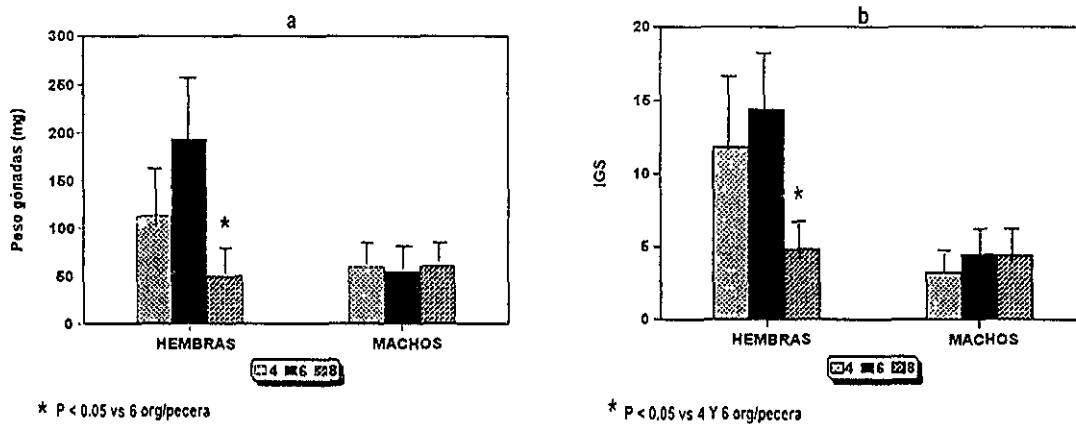
RESULTADOS

Gráfica 1. Promedio ± e.e.m. de longitud patrón (a) y peso corporal (b) de la tilapia *Oreochromis niloticus* hembras y machos mantenidas en diferentes densidades de carga durante 90 días.



En la Gráfica 1 se muestran los resultados obtenidos en el crecimiento de machos y hembras de *Oreochromis niloticus*. En los machos el mayor crecimiento en longitud patrón y peso se registró cuando los peces fueron mantenidos a baja densidad (4 peces/acuario) y el menor incremento se registró en aquellos mantenidos en grupos de 6 peces/pecera ($p < 0.05$). En las hembras el crecimiento tanto en longitud como en peso fue semejante en todas las densidades de carga probadas. Asimismo, se pueden apreciar diferencias en la longitud entre hembras y machos cuando fueron expuestos a densidad de 4 peces por acuario.

Gráfica 2. Media \pm e.e.m. de (a) peso de gónadas y (b) índice gonadosomático de *O. niloticus* mantenidas en diferentes densidades de carga.



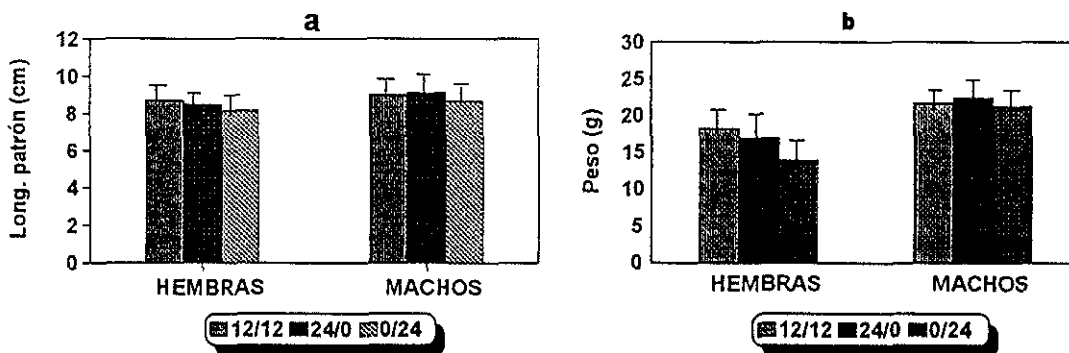
El desarrollo gonadal en las hembras (peso de gónadas e índice gonadosomático) alcanzó sus valores más altos cuando se colocaron 6 peces/acuario y el menor desarrollo en aquellas que se expusieron a altas densidades ($p < 0.05$). Para los machos se observó que el desarrollo gonadal fue similar en todos los grupos (Gráfica 2).

EXPERIMENTO 2.

OBJETIVO: Analizar los efectos de diferentes fotoperiodos (12/12, 24/0 y 0/24 luz/obscuridad) sobre el crecimiento de *Oreochromis niloticus*.

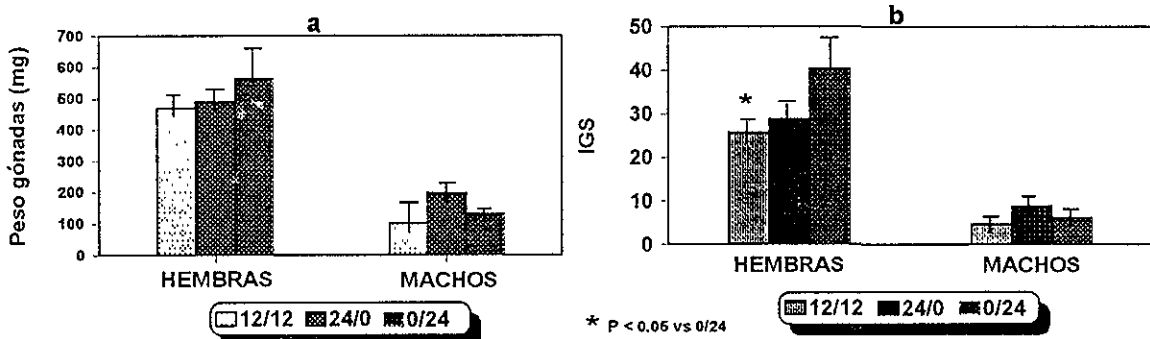
Se colocaron peceras con ocho peces en condiciones controladas de iluminación (12/12, 24/0 y 0/24 luz/obscuridad (l/o)), a temperatura de 25°C, durante 90 días (noviembre-febrero). Al final del experimento, los animales fueron sacrificados y procesados como se describió anteriormente.

Gráfica 3. Promedio \pm e.e.m. de (a) longitud patrón (cm) y (b) peso (g) de hembras y machos colocados a temperatura de 25°C y diferentes condiciones de fotoperiodo.



En la Gráfica 3 se muestran los resultados obtenidos en el crecimiento de la tilapia sometida a diferentes regímenes de fotoperiodo. El crecimiento en longitud patrón y peso total de los machos fue similar en todos los grupos. El crecimiento potencial de las hembras fue menor que el de los machos cuando los animales fueron mantenidos en condiciones de oscuridad continua ($p < 0.05$).

Gráfica 4. Media \pm e.e.m. a) peso de gónadas (mg) y b) índice gonadosomático (IGS) de machos y hembras de *Oreochromis niloticus* sometidos a temperatura de 25°C y diferentes fotoperiodos.



Como se puede observar en la gráfica 4, en las hembras el mayor índice gonadosomático se obtuvo cuando fueron expuestas a condiciones de oscuridad continua y el menor cuando se sometieron a condiciones similares de luz/oscuridad ($p < 0.05$). En los machos su mejor desarrollo gonadal se observa cuando éstos se expusieron a luz continua, sin llegar a observarse diferencias estadísticas significativas.

EXPERIMENTO 3.

OBJETIVO: Evaluar los efectos de diferentes condiciones de temperatura (25 y 30°C) y fotoperiodos (12/12; 24/0 y 0/24 luz/obscuridad) sobre el crecimiento de *Oreochromis niloticus*.

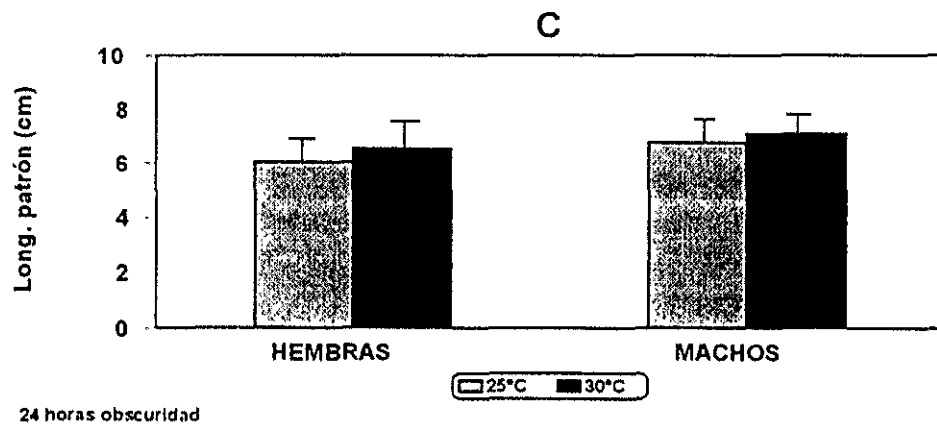
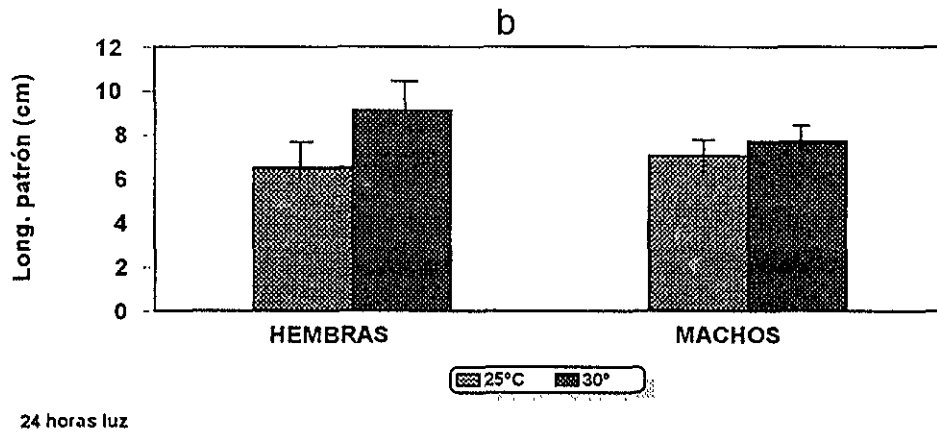
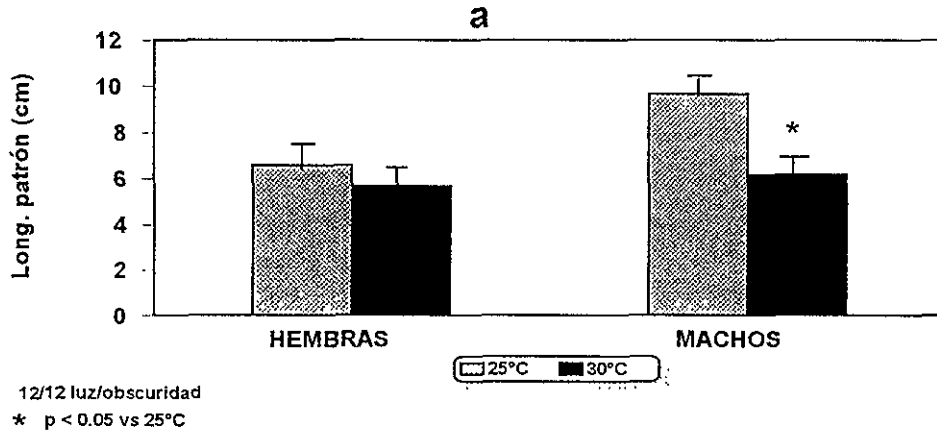
Se colocaron peceras con ocho peces bajo condiciones controladas de temperatura (25 y 30°C) y fotoperiodo (12/12; 24/0 y 0/24 luz/obscuridad) durante 90 días (abril-julio). Al finalizar el experimento, los animales fueron sacrificados como se describió en párrafos anteriores.

RESULTADOS

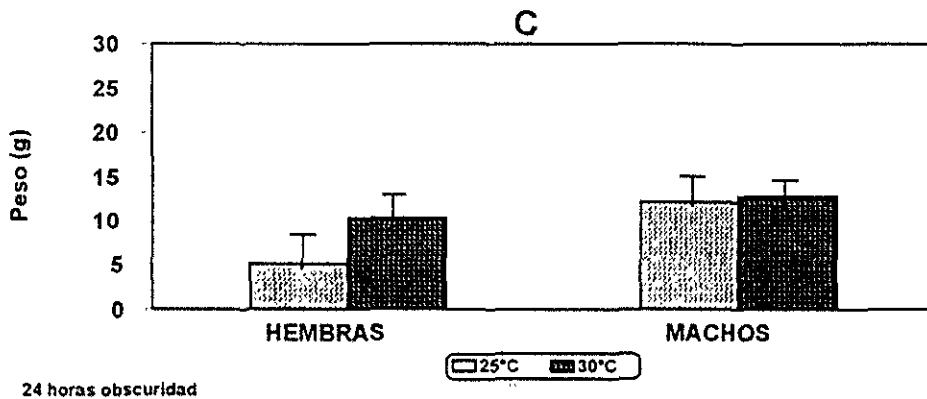
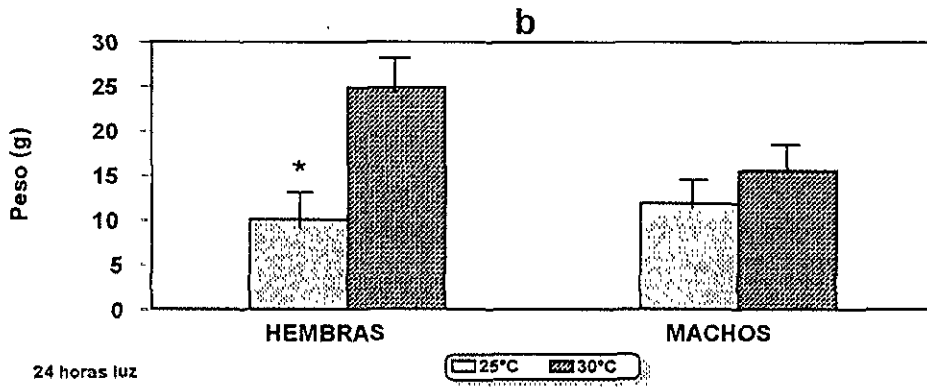
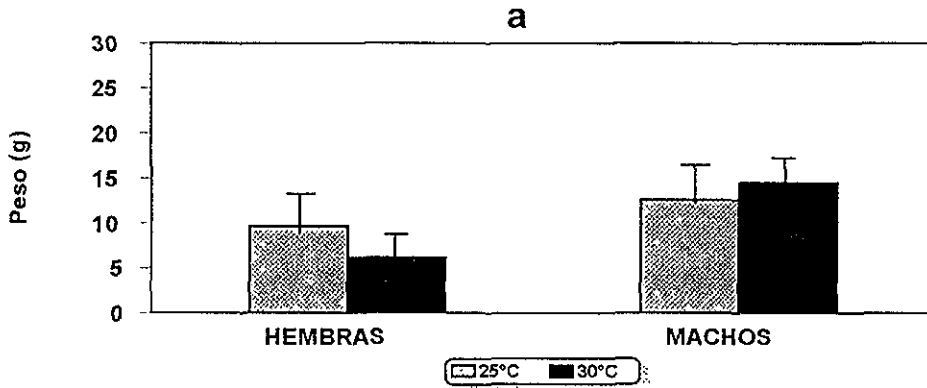
En la gráfica 5 se muestran los resultados obtenidos para el crecimiento en longitud patrón de la tilapia mantenidas bajo diferentes temperaturas y fotoperiodos, en donde se puede apreciar que su crecimiento fue similar en todos los tratamientos ($p < 0.05$).

Con respecto al crecimiento en peso total se observa que cuando los machos fueron expuestos a fotoperiodo de 12/12 luz/obscuridad y temperatura de 30°C alcanzaron mayor crecimiento. Mientras que las hembras obtuvieron mayor crecimiento cuando fueron sometidas a condiciones de luz continua y 30°C (Gráfica 6).

Gráfica 5. Media \pm e.e.m. de la longitud patrón (cm) de hembras y machos de *O. niloticus*, mantenidas bajo diferentes condiciones de temperatura (25 y 30°C) y fotoperiodo de a) 12/12 horas luz/obscuridad; b) 24 horas luz y c) 24 horas obscuridad.



Gráfica 6. Media \pm e.e.m. del peso total (g) de hembras y machos de *O. niloticus*, mantenidas bajo diferentes condiciones de temperatura (25 y 30°C) y fotoperíodo de a) 12/12 hora luz/obscuridad; b) 24 horas luz y c) 24 horas obscuridad.



EXPERIMENTO 4.

Objetivo: Estudiar el efecto de diferentes condiciones de fotoperiodo y temperatura sobre el desarrollo gonadal durante diversas épocas del año.

Este experimento se llevó a cabo en diferentes épocas del año para ello, se colocaron 8 peces por pecera y se sometieron a diferentes condiciones de fotoperiodo (12/12; 24/0; 0/24 l/o) y temperaturas (25°C y 30°), una vez transcurridos tres meses de experimentación los peces fueron sacrificados como se mencionó en el apartado correspondiente.

TABLA 2. PROMEDIO \pm e.e.m. DE LA LONGITUD PATRÓN, PESO TOTAL, PESO DE GÓNADAS E ÍNDICE GONADOSOMÁTICO DE TILAPIAS *O. niloticus* MANTENIDAS BAJO FOTOPERIODO DE 12 HORAS LUZ/12 HORAS OSCURIDAD Y TEMPERATURA DE 25°C EN DIFERENTES ÉPOCAS DEL AÑO.

MACHOS	n	LONG. PATRÓN (cm)	PESO TOTAL (g)	PESO DE GÓNADAS (mg)	GSI
PRIM-VER (ABR-JULIO)	13	6.76 \pm 0.49	12.70 \pm 3.08	35.34 \pm 10.16	2.22 \pm 0.66
VERANO (JUL-SEPT)	6	5.47 \pm 0.33	5.51 \pm 1.07 [▲]	13.20 \pm 1.76	0.26 \pm 0.06
INVIERNO (NOV-FEB)	11	9.00 \pm 0.32	21.73 \pm 2.37	101.15 \pm 90.65	4.10 \pm 3.07
HEMBRAS					
PRIM-VER (ABR-JULIO)	4	7.34 \pm 0.32	12.15 \pm 1.70	60.24 \pm 1.56	3.52 \pm 1.73
VERANO (JUL-SEPT)	4	5.57 \pm 0.29	5.30 \pm 0.75 [▲]	19.87 \pm 1.49	0.41 \pm 0.06
INVIERNO (NOV-FEB)	7	8.65 \pm 0.63	18.21 \pm 3.21	469.28 \pm 161.12*	21.65 \pm 5.34*

* p < 0.05 vs hembras en diferentes épocas

▲ p < 0.05 vs peso del mismo sexo en diferentes épocas

TABLA 3. MEDIA \pm e.e.m. DE LA LONGITUD PATRÓN, PESO TOTAL, PESO DE GÓNADAS E ÍNDICE GONADOSOMÁTICO DE TILAPIAS *O. niloticus* MANTENIDAS BAJO FOTOPERIODO DE 24 HORAS LUZ Y TEMPERATURA DE 25°C EN DIFERENTES ÉPOCAS DEL AÑO.

MACHOS	n	LONG. PATRÓN (cm)	PESO TOTAL (g)	PESO DE GÓNADAS (mg)	GSI
PRIM-VER (ABR-JULIO)	9	6.34 \pm 0.20	9.66 \pm 0.86	12.85 \pm 0.88	1.40 \pm 0.09
VERANO (JUL-SEPT)	6	5.63 \pm 0.37	6.38 \pm 1.06*	18.28 \pm 2.59	0.34 \pm 0.08
INVIERNO (NOV-FEB)	11	9.15 \pm 0.58	22.37 \pm 9.49	198.45 \pm 50.22*	7.47 \pm 1.58*
HEMBRAS					
PRIM-VER (ABR-JULIO)	4	8.30 \pm 0.75	22.35 \pm 6.37	254.72 \pm 194.57	2.36 \pm 1.12
VERANO (JUL-SEPT)	4	4.47 \pm 0.19	2.87 \pm 0.35*	13.35 \pm 3.13	0.44 \pm 0.06
INVIERNO (NOV-FEB)	6	8.26 \pm 0.46	16.91 \pm 2.17	488.56 \pm 104.55	26.68 \pm 4.34*

* p < 0.05 vs igual sexo en diferentes época

TABLA 4. PROMEDIO \pm e.e.m. DE LA LONGITUD PATRÓN, PESO TOTAL, PESO DE GÓNADAS E ÍNDICE GONADOSOMÁTICO DE TILAPIAS *O. niloticus* MANTENIDAS A FOTOPERIODO DE 24 HORAS OSCURIDAD Y TEMPERATURA DE 25°C EN DIFERENTES ÉPOCAS DEL AÑO.

MACHOS	n	LONG. PATRÓN (cm)	PESO TOTAL (g)	PESO DE GÓNADAS (mg)	GSI
PRIM-VER (ABR-JULIO)	16	6.28 \pm 0.43	10.10 \pm 2.09	51.52 \pm 16.00	2.21 \pm 0.62
VERANO (JUL-SEPT)	9	5.87 \pm 0.22	6.80 \pm 0.73▲	24.35 \pm 2.60	0.37 \pm 0.03
INVIERNO (NOV-FEB)	12	8.70 \pm 0.24	21.40 \pm 1.89	133.90 \pm 24.09	6.12 \pm 1.10▲
HEMBRAS					
PRIM-VER (ABR-JULIO)	2	6.90 \pm 0.70	11.40 \pm 3.39	264.80 \pm 171.1*	1.88 \pm 1.11
VERANO (JUL-SEPT)	2	5.35 \pm 0.53	4.80 \pm 1.13▲	19.00 \pm 8.62	0.35 \pm 0.09
INVIERNO (NOV-FEB)	9	7.62 \pm 0.19	13.91 \pm 1.26	565.23 \pm 133.19▲*	39.04 \pm 7.77▲*

* p < 0.05 vs diferente sexo en la misma época

▲ p < 0.05 vs mismo sexo en diferente época

En las tablas 2, 3 y 4 se presentan los resultados de madurez gonádica de *O. niloticus* mantenida bajo diferentes regímenes de fotoperiodos y temperatura constante de 25°C, en diferentes épocas del año y de donde se desprende que el mayor desarrollo se obtuvo cuando se trabajó con los animales en época de invierno, independientemente del fotoperiodo al cual se hayan sometido. Los peces machos tuvieron un mejor desarrollo gonadal cuando fueron sometidos a condiciones de luz continua, mientras que las hembras alcanzaron su mayor maduración bajo condiciones de obscuridad total.

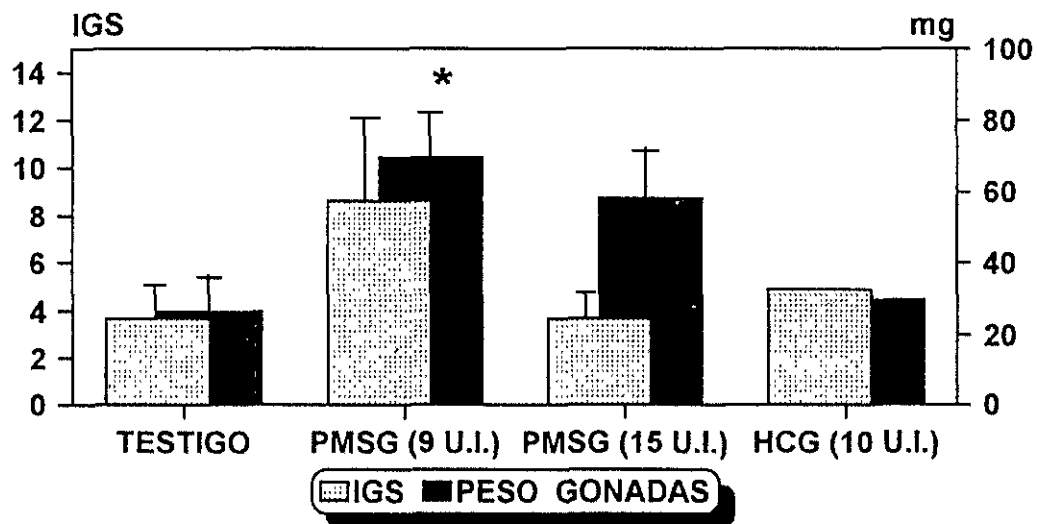
EXPERIMENTO 5.

Objetivo: Estudiar el efecto que provoca el aplicar diferentes concentraciones de hormona gonadotrópica de yegua preñada simultáneamente con hormona coriónica humana a machos de *O. niloticus*.

Este experimento se diseñó para analizar el efecto que tiene el aplicar diferentes dosis de hormona gonadotrópica de yegua preñada (PMSG) (9 y 15 u.i.) y hormona coriónica humana (HCG) (10 u.i.), independiente y simultáneamente a machos de *O. niloticus* de aproximadamente 5 meses de edad, los cuales se mantuvieron bajo condiciones de 12/12 L/O y 25°C (agosto-diciembre). Transcurridos ocho días después de la aplicación de hormonas los peces fueron sacrificados por decapitación y disecados como se mencionó en el apartado correspondiente.

RESULTADOS

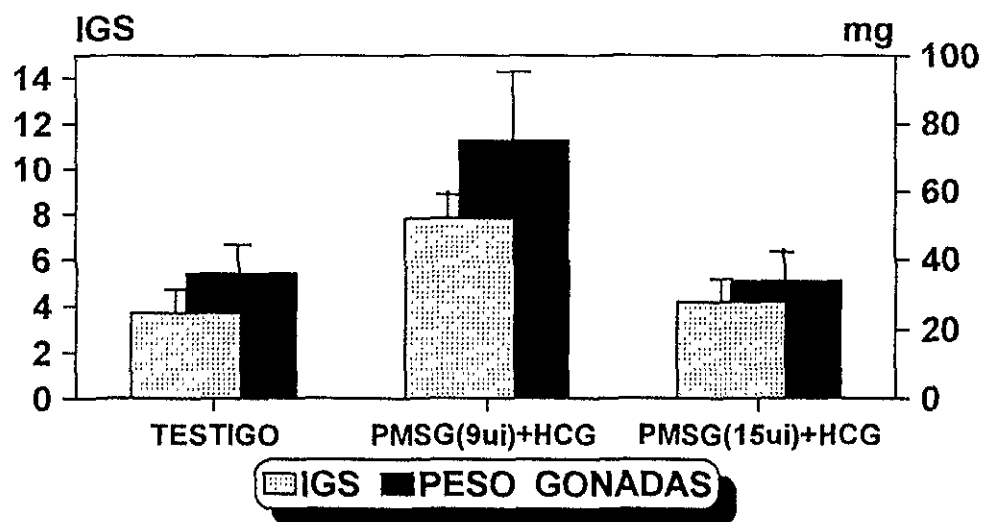
Gráfica 7. Promedio ± e.e.m. del índice gonadosomático y peso de gónadas de machos de *O. niloticus* a los que se les aplicaron diferentes dosis de PMSG (9 y 15 u.i.) y HCG (10 u.i.).



* p < 0.05 vs. testigo

En la Gráfica 7 se observa que al aplicar la gonadotropina PMSG en 9 u.i. se tiene mayor efecto en el desarrollo gonadal (peso de gónadas e índice gonadosomático) comparado contra el testigo, cuando se suministran 9 u.i. de PMSG, sin que esas diferencias lleguen a ser estadísticamente significativas ($p < 0.05$), debido principalmente a la gran variación de los resultados obtenidos. Mientras que cuando se aplican 15 u.i. de PMSG ó 10 u.i. de HCG los incrementos no son tan marcados.

Gráfica 8. Promedio \pm e.e.m. del índice gonadosomático y peso de gónadas de machos de *O. niloticus* a los que se les aplicó PMSG (9 ó 15 u.i.) y HCG (10 u.i.) simultáneamente.



En esta gráfica se puede observar que al aplicar simultáneamente hormona de yegua preñada con hormona gonadotrófica humana existe un mayor incremento en el peso de las gónadas y del índice gonadosomático cuando se suministran 9 u.i. de PMSG más 10 u.i. de HCG, comparado contra los testigos, no así cuando se suministran 15 u.i. de PMSG simultáneamente con 10 u.i. de HCG.

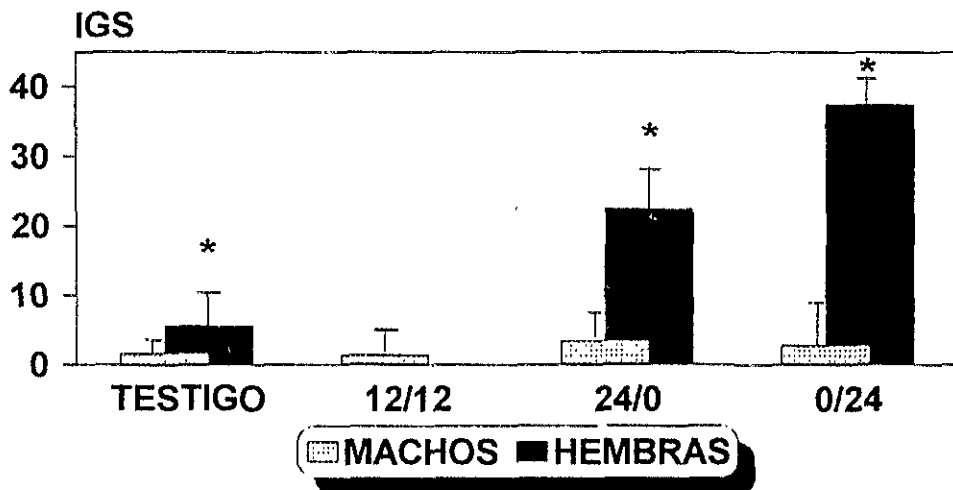
EXPERIMENTO 6.

Objetivo: Estudiar los efectos de la aplicación de la Hormona Coriónica Humana (HCG) a *Oreochromis niloticus* machos y hembras maduras (aproximadamente seis meses de edad) sobre el índice gonadosomático, animales que habían sido mantenidos bajo diferentes fotoperiodos (12/12; 24/0; 0/24) y temperatura de 25°C, por espacio de tres meses (enero-marzo).

El experimento se diseñó para conocer el efecto que causa el aplicar diferentes concentraciones de HCG sobre el desarrollo gonadal de *O. niloticus*.

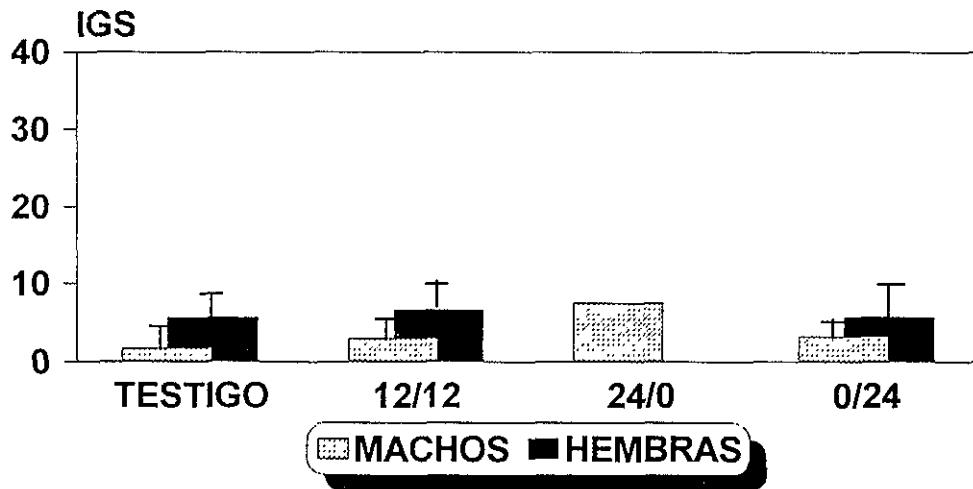
RESULTADOS

Gráfica 9. Promedio \pm e.e.m. del índice gonadosomático de hembras y machos mantenidos bajo diferentes condiciones de fotoperiodo a los que se les aplicaron 20 u.i. de HCG.

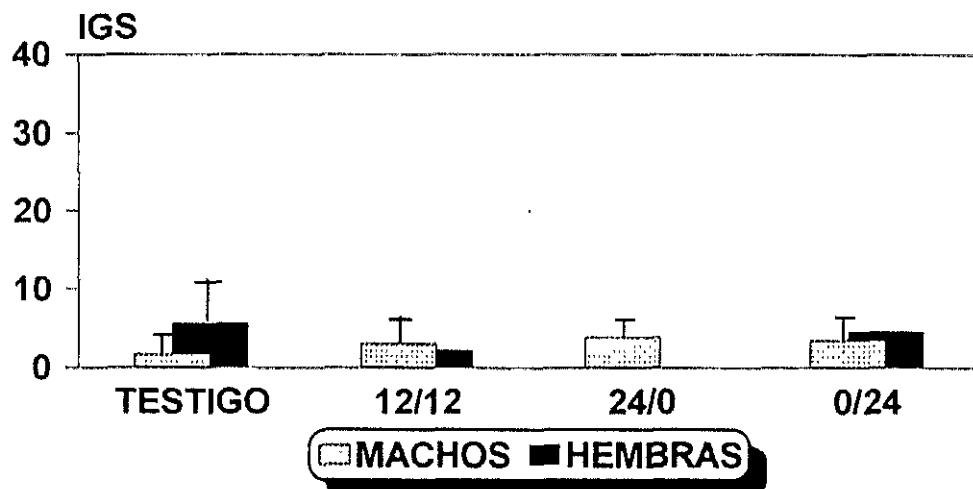


* P < 0.05 vs. machos

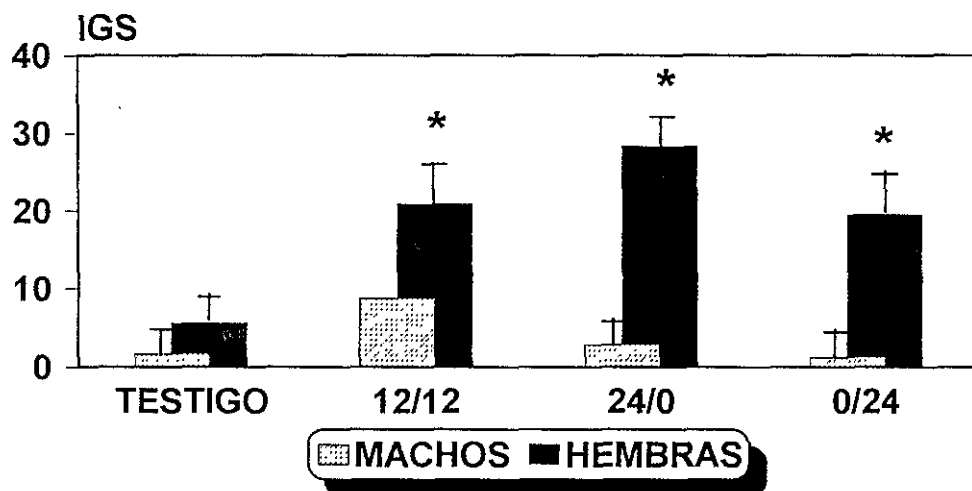
Gráfica 10. Media \pm e.e.m. del índice gonadosomático de hembras y machos mantenidos bajo diferentes condiciones de fotoperiodo a los que se les aplicaron 30 u.i. de HCG



Gráfica 11. Promedio \pm e.e.m. del índice gonadosomático de hembras y machos mantenidos bajo diferentes condiciones de fotoperiodo a los que se les aplicaron 40 u.i. de HCG

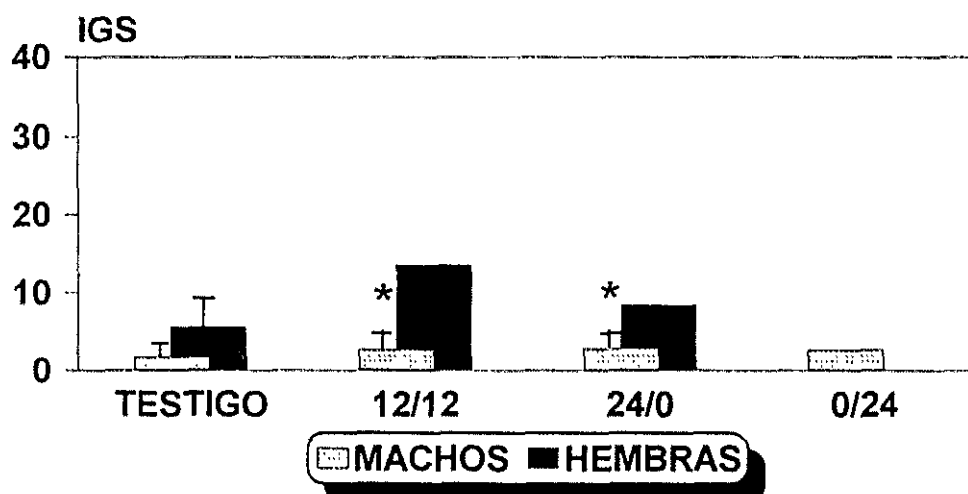


Gráfica 12. Promedio \pm e.e.m. del índice gonadosomático de hembras y machos mantenidos bajo diferentes condiciones de fotoperiodo a los que se les aplicaron 50 u.i. de HCG.



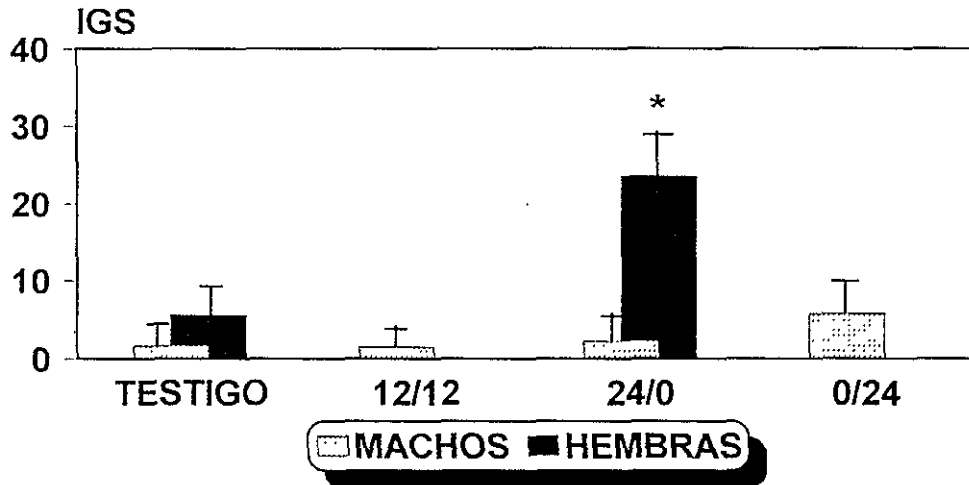
* $p < 0.05$ vs. machos

Gráfica 13. Media \pm e.e.m. del índice gonadosomático de hembras y machos mantenidos bajo diferentes condiciones de fotoperiodo a los que se les aplicaron 100 u.i. de HCG



* $p < 0.05$ vs. hembras

Gráfica 14. Promedio \pm e.e.m. del índice gonadosomático de hembras y machos mantenidos bajo diferentes condiciones de fotoperiodo a los que se les aplicaron 150 u.i. de HCG.



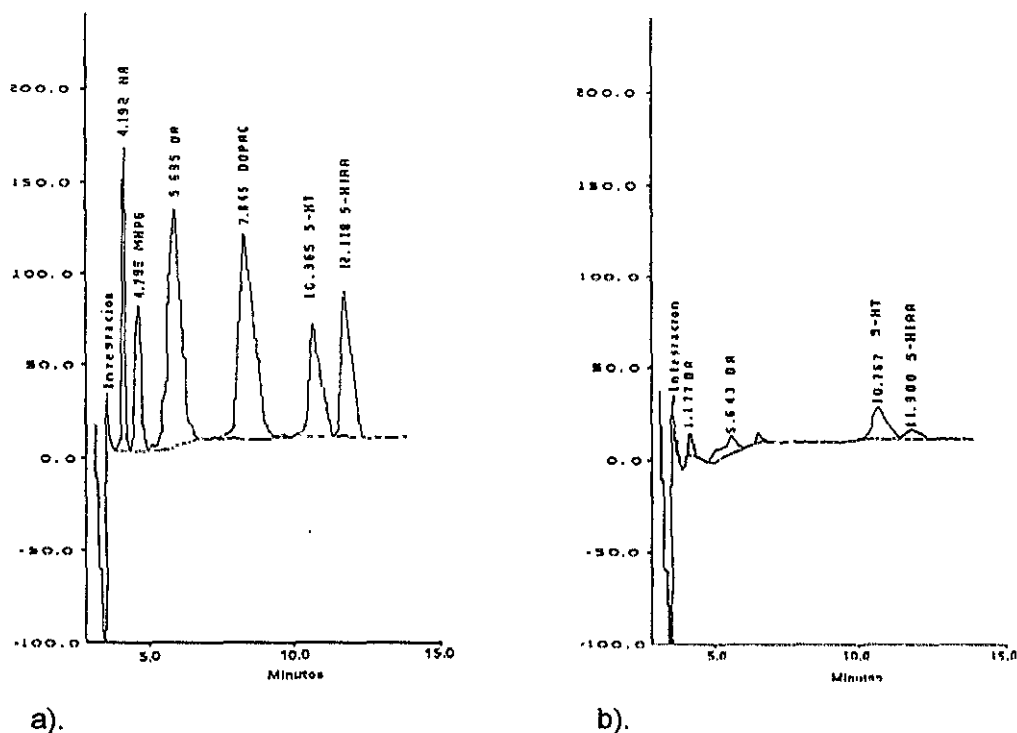
* $p < 0.05$ vs. hembras

En las gráficas de la 9 a la 14 se presentan los resultados de la aplicación de diferentes dosis de hormona gonadotrófica humana (HCG) a *O. niloticus* y en donde se aprecia que los mejores resultados se obtuvieron al aplicar 20 u.i. cuando las hembras se habían expuesto a obscuridad continua, así como 50 y 150 u.i. cuando se expusieron a 24 horas de luz. En los machos, se observan incrementos en el desarrollo gonadal al aplicar 30 u.i. bajo condiciones de 24/0, 50 u.i. a los expuestos a condiciones de 12/12 y 150 u.i. bajo condiciones de obscuridad, sin que se registren cambios estadísticamente significativos con respecto a sus testigos. Resultados a partir de los cuales se puede inferir que para los machos de esta especie, la aplicación de la hormona coriónica humana no provoca ningún estímulo positivo para el incremento del desarrollo gonadal. Mientras que para las hembras, este estímulo se vio favorecido con diferentes dosis de la hormona bajo condiciones de iluminación extremas.

CATECOLAMINAS

Objetivo: Conocer las concentraciones de catecolaminas (noradrenalina y dopamina) y de la indolamina (serotonina) en el hipotálamo de *Oreochromis niloticus* que fueron mantenidas durante 90 días (octubre-enero) bajo diferentes condiciones de iluminación (12/12, 24/0 y 0/24 luz/obscuridad) y temperatura (25 y 30°C).

A los animales que fueron expuestos a diferentes condiciones de fotoperiodo y temperatura se les extrajo el hipotálamo (como se mencionó en el apartado correspondiente) para cuantificar la concentración de catecolaminas (Noradrenalina "NA" y Dopamina "DA"), así como de la indolamina (Serotonina "5-HT") y sus metabolitos respectivos, por medio de HPLC con detector electroquímico.



Gráfica 15. a) cromatograma de solución estándar. b) cromatograma que muestra el contenido de Noradrenalina (NA), Dopamina (DA), Serotonina (5-HT) e 5-Hidroxitriptamina (5-HIAA).

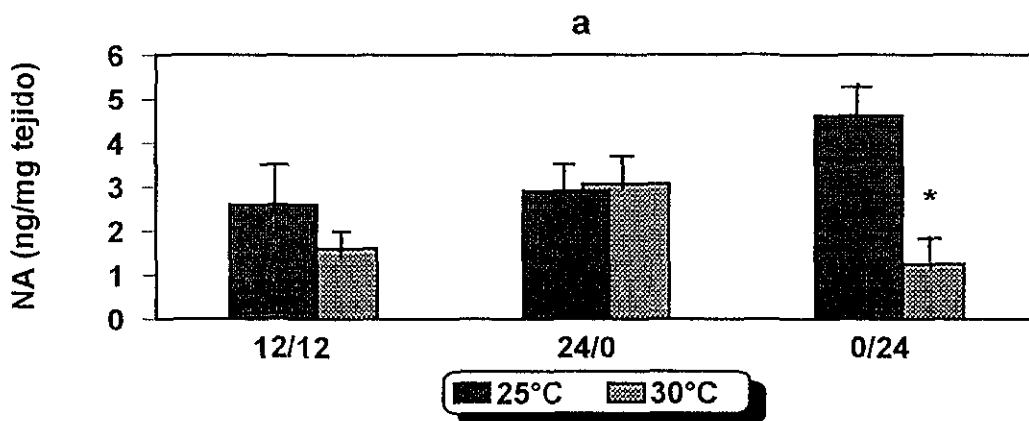
En la gráfica 15a, se presenta un cromatograma estándar típico y la gráfica 15b un cromatograma en donde se puede observar las concentraciones de algunos neurotransmisores y sus respectivos metabolitos. Las concentraciones registradas para las monoaminas se encuentra entre los 0.01 y 8.0 ng/mg de tejido hipotalámico. El tiempo total de corrimiento de cada muestra fue de 15 minutos a razón de flujo de 1 ml/min. Para el corrimiento de los estándares y de las muestras se inyectaron 20 μ l de muestra.

En el hipotálamo de hembras y machos de crías de *Oreochromis niloticus* de 30 días de nacidas no se observaron diferencias en las concentraciones de NA, DA, 5-HT y sus metabolitos, ni en el GSI (Tabla 5).

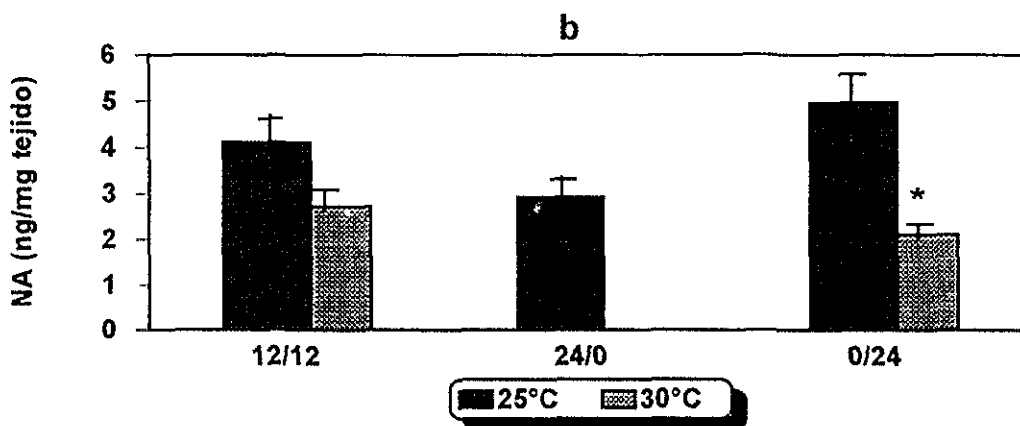
Tabla 5. Concentración de los diferentes aminoácidos y sus metabolitos detectados en el hipotálamo de la tilapia *Oreochromis niloticus* hembras y machos, así como el índice gonadosomático, a la edad de 30 días de nacidos

	NA (ng/mg tejido)	MHPG (ng/mg tejido)	DA (ng/mg tejido)	DOPAC (ng/mg tejido)	5-HT (ng/mg tejido)	5-HIAA (ng/mg tejido)	GSI
MACHOS	1.3 \pm 0.32	2.1 \pm 0.72	0.4 \pm 0.09	0.14 \pm 0.01	1.1 \pm 0.34	0.3 \pm 0.13	0.25 \pm 0.03
HEMBRAS	2.4 \pm 0.31	2.5 \pm 0.57	0.4 \pm 0.08	0.14 \pm 0.17	2.0 \pm 0.34	0.6 \pm 0.12	0.25 \pm 0.03

Gráfica 16. Media \pm e.e.m. del contenido de Noradrenalina (NA) (ng/mg de tejido) en el hipotálamo de tilapias a) machos y b) hembras, mantenidas a 25°C y 30°C y en diferentes fotoperiodos.



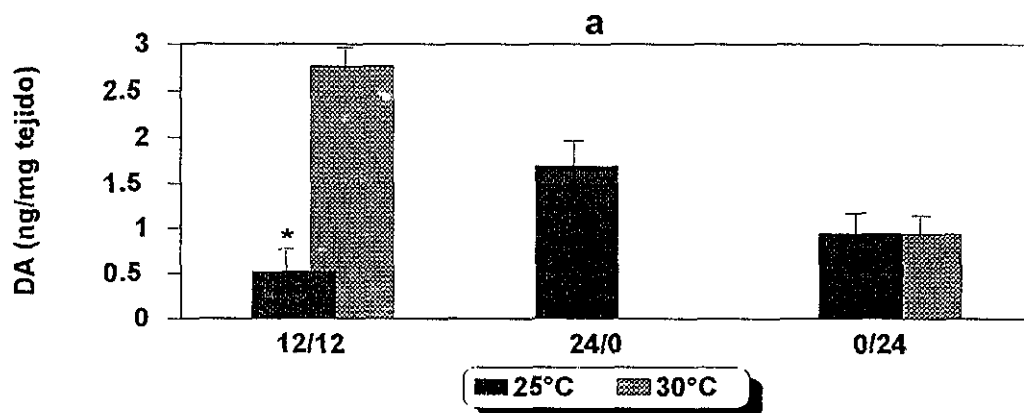
* $p < 0.05$ vs. 25°C



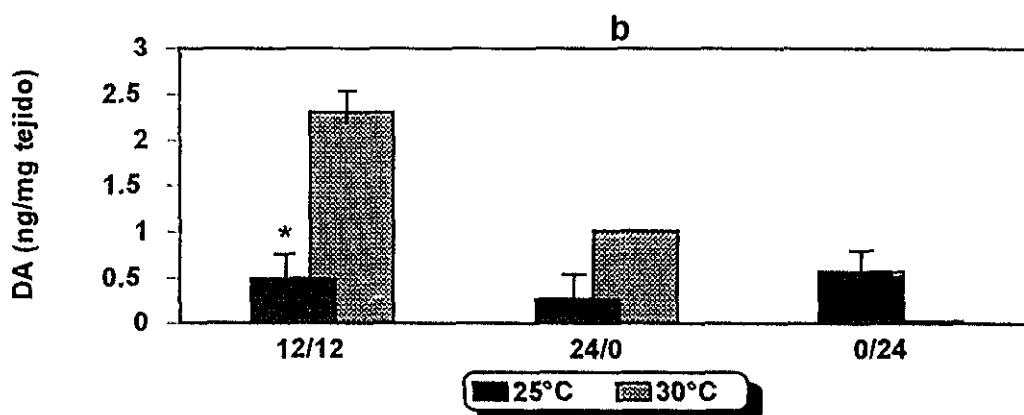
* $p < 0.05$ vs. 30°C

Tanto en machos como en hembras mantenidos en condiciones de obscuridad continua, la concentración de NA fue significativamente menor cuando el agua de las peceras estuvo a 30°C. En el hipotálamo de las hembras sometidas a 30°C y luz constante no se detectó la presencia de NA (menor de 10 pg/mg de tejido).

Gráfica 17. Promedio \pm e.e.m. del contenido de Dopamina (DA) (ng/mg de tejido) en el hipotálamo de tilapias a) machos y b) hembras, mantenidas a 25°C y 30°C y en diferentes fotoperiodos.



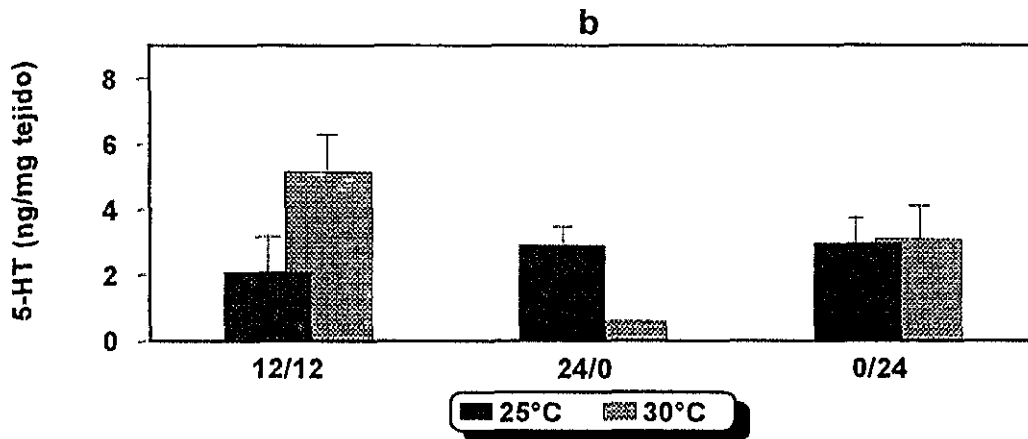
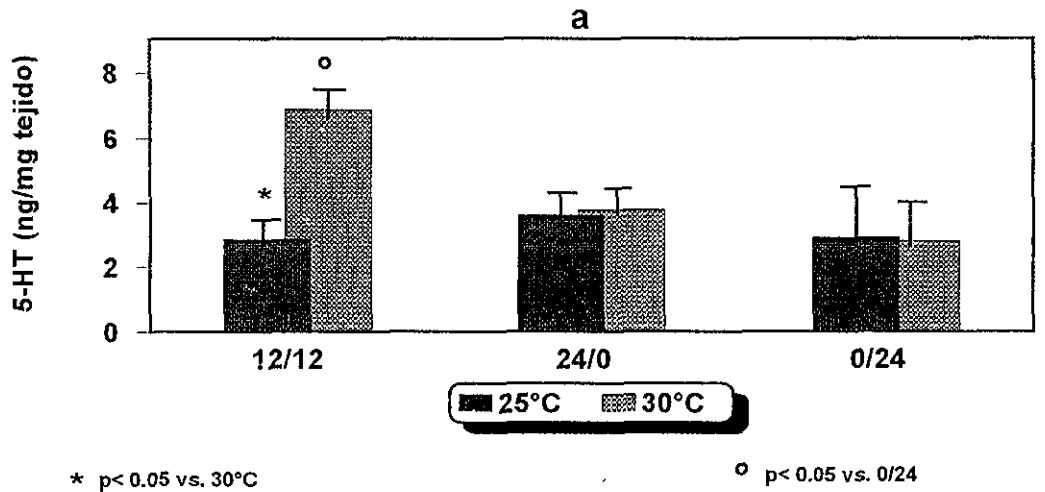
* $p < 0.05$ vs. 30°C



* $p < 0.05$ vs. 30°C

La mayor concentración de DA en el hipotálamo de los machos se observó cuando los animales fueron mantenidos a 30°C y en condiciones de 12/12 l/o y la mínima cuando se les mantuvo a 25°C bajo las mismas condiciones de l/o. No se detectó DA en el hipotálamo de los peces sometidos a 30°C y luz constante. La concentración de DA en el hipotálamo de las hembras bajo condiciones de 25°C fueron similares en todos los fotoperiodos a que fueron expuestas, mientras que a 30°C la mayor concentración se registró bajo 12/12 l/o y las menores bajo condiciones de oscuridad continua.

Gráfica 18. Media \pm e.e.m. del contenido de Serotonina (5-HT) (ng/mg de tejido) en el hipotálamo de tilapias a) machos y b) hembras, mantenidas a 25°C y 30°C y en diferentes fotoperiodos.



La concentración de 5-HT fue significativamente mayor en el hipotálamo de los machos mantenidos en peceras a 30°C y con fotoperiodo de 12/12 l/o, que los que estuvieron a 25°C en las mismas condiciones de fotoperiodo. La temperatura no influyó en la concentración de los neurotransmisores cuando fueron expuestos a otros fotoperiodos. Para el caso de las hembras, no se observaron diferencias en la concentración 5-HT en las que fueron mantenidas a 25°C y diferentes fotoperiodos, mientras que a 30°C la mayor concentración se registró al mantener a los animales bajo fotoperiodo de 12/12 l/o y la menor concentración en las que estuvieron expuestas a luz continua.

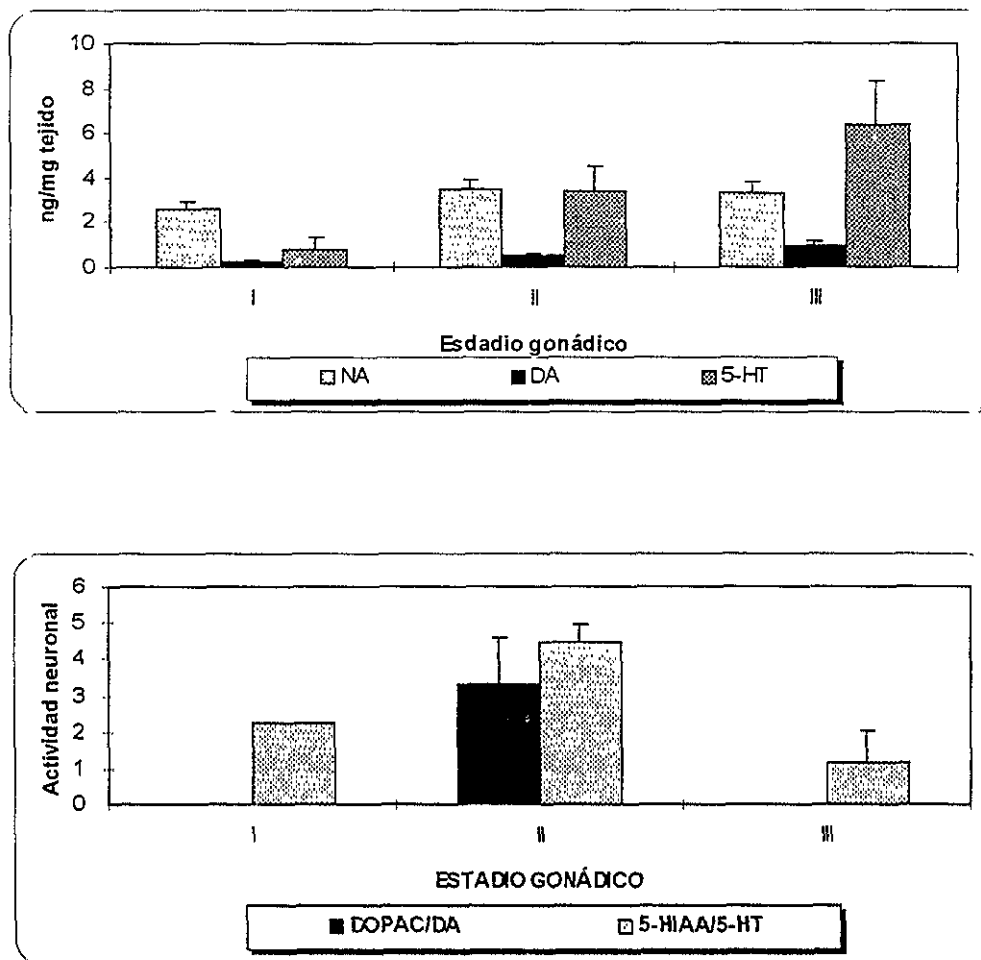
ACTIVIDAD NEURONAL

La actividad de las neuronas se puede medir como una función de la síntesis y liberación del neurotransmisor y su metabolito. La actividad de las neuronas noradrenérgicas de los animales sometidos a los diferentes tratamientos no se cuantificó, debido a que las concentraciones del neurotransmisor no fueron detectables. No así para los animales sacrificados a los 30 días de edad.

Tabla 6. Valores de la actividad de los diferentes grupos de neuronas cuantificadas en el hipotálamo de la tilapia *Oreochromis niloticus* hembras y machos a la edad de 30 días.

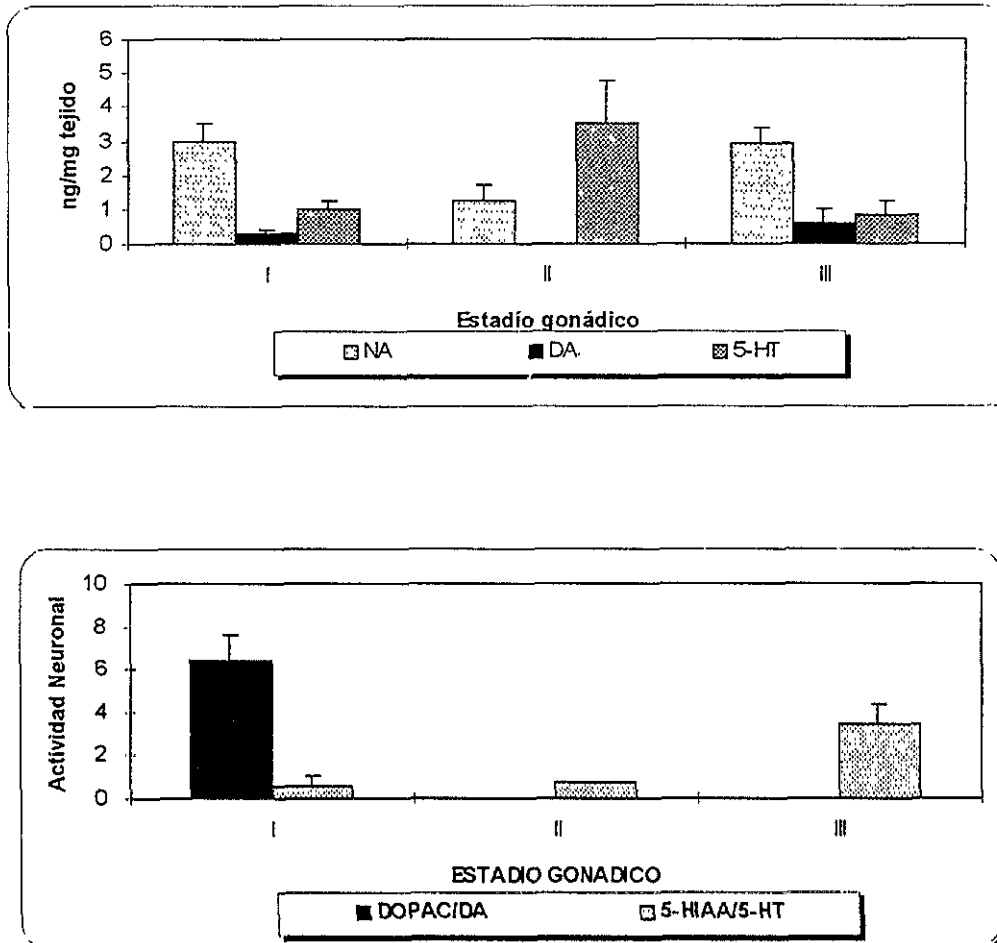
	MHPG/NA	DOPAC/DA	5-HIAA/5-HT
MACHOS	0.91±0.29	0.36±0.01	0.32±0.05
HEMBRAS	1.02±0.24	0.30±0.05	0.30±0.03

Gráfica 19. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias machos, mantenidos a 25°C y fotoperiodo de 12/12 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



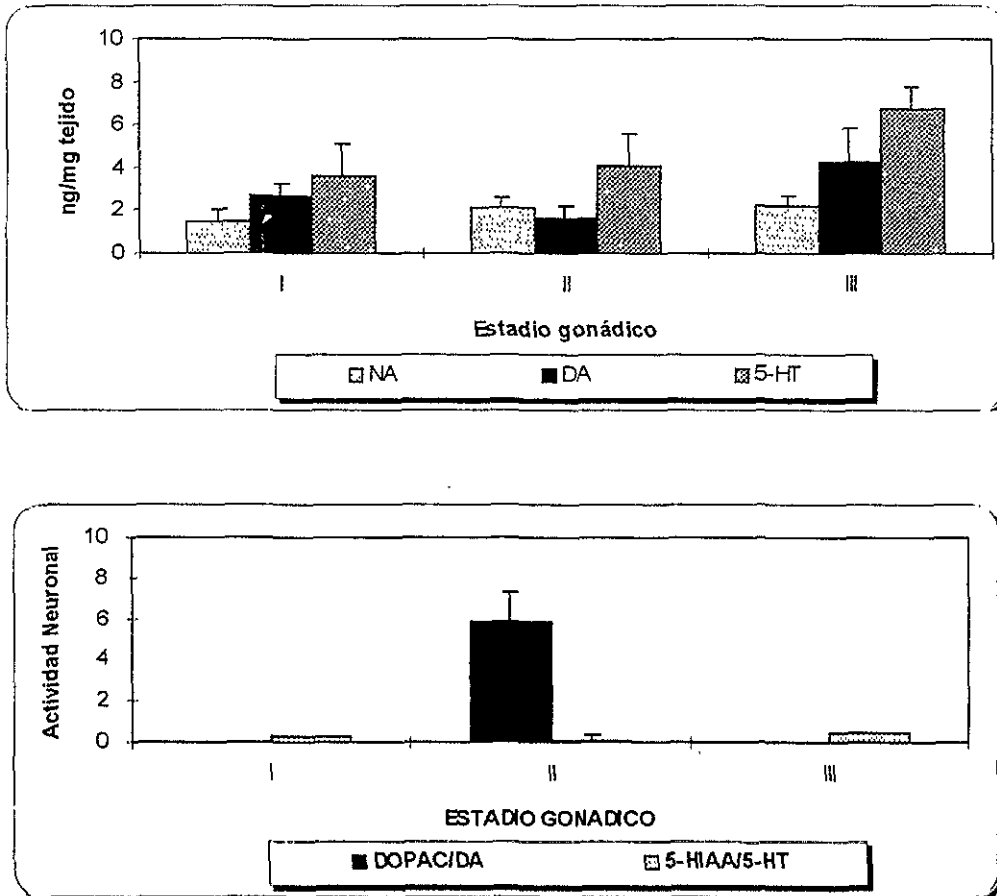
La concentración de NA fue similar en el hipotálamo de los machos independientemente del desarrollo gonadal, mientras que la concentración de DA y 5-HT se va incrementando conforme maduran sexualmente los machos. La actividad de las neuronas dopaminérgicas, sólo pudo ser calculado cuando los machos se encontraban en estadio de desarrollo II. Las neuronas serotoninérgicas presentan mayor actividad cuando los animales estuvieron en el estadio II y disminuye conforme el animal madura sexualmente.

Gráfica 20. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias hembras, mantenidas a 25°C y fotoperiodo de 12/12 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



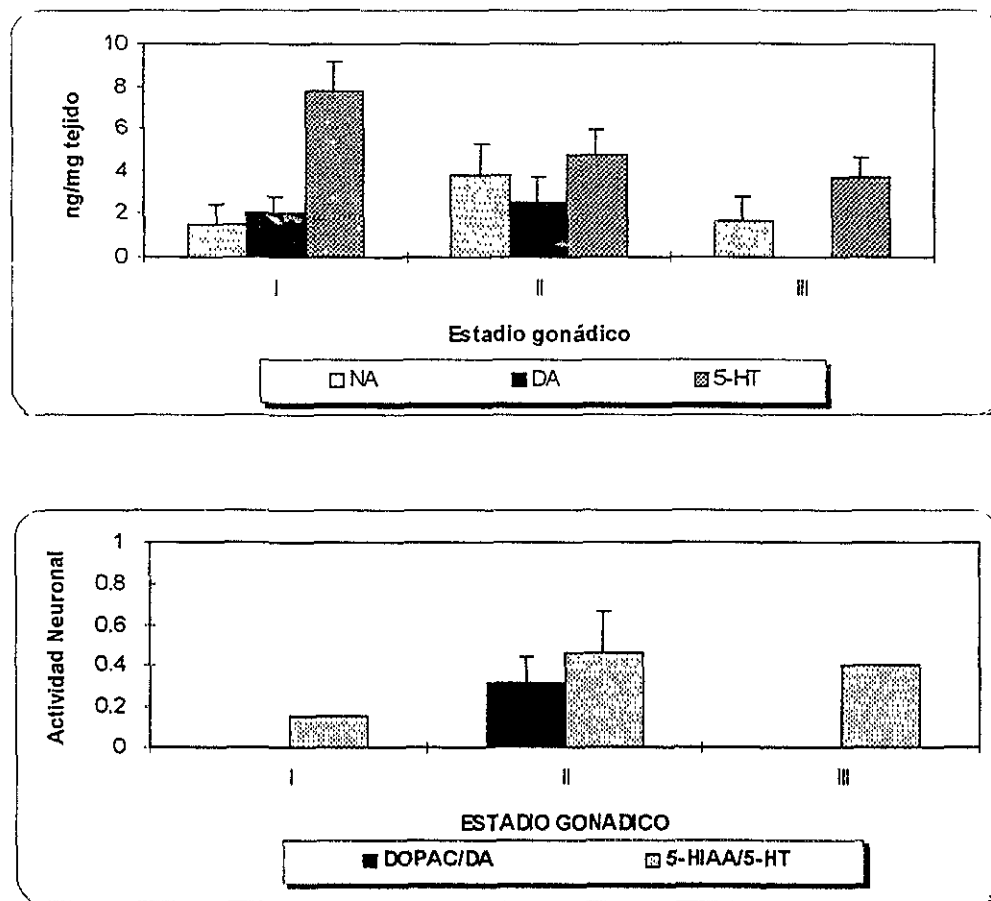
En las hembras, la concentración de NA aumenta al pasar del estadio de desarrollo de maduración II al III, mientras que el comportamiento de la concentración de 5-HT es inverso y la concentración de DA es mayor cuando las hembras son maduras. Por lo que respecta a la actividad dopaminérgica, esta únicamente se presenta cuando las hembras son inmaduras. La actividad neuronal serotoninérgica es mayor conforme avanza en el desarrollo gonadal de las hembras expuestas a estas condiciones.

Gráfica 21. Media \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias machos, mantenidos a 30°C y fotoperiodo de 12/12 h en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



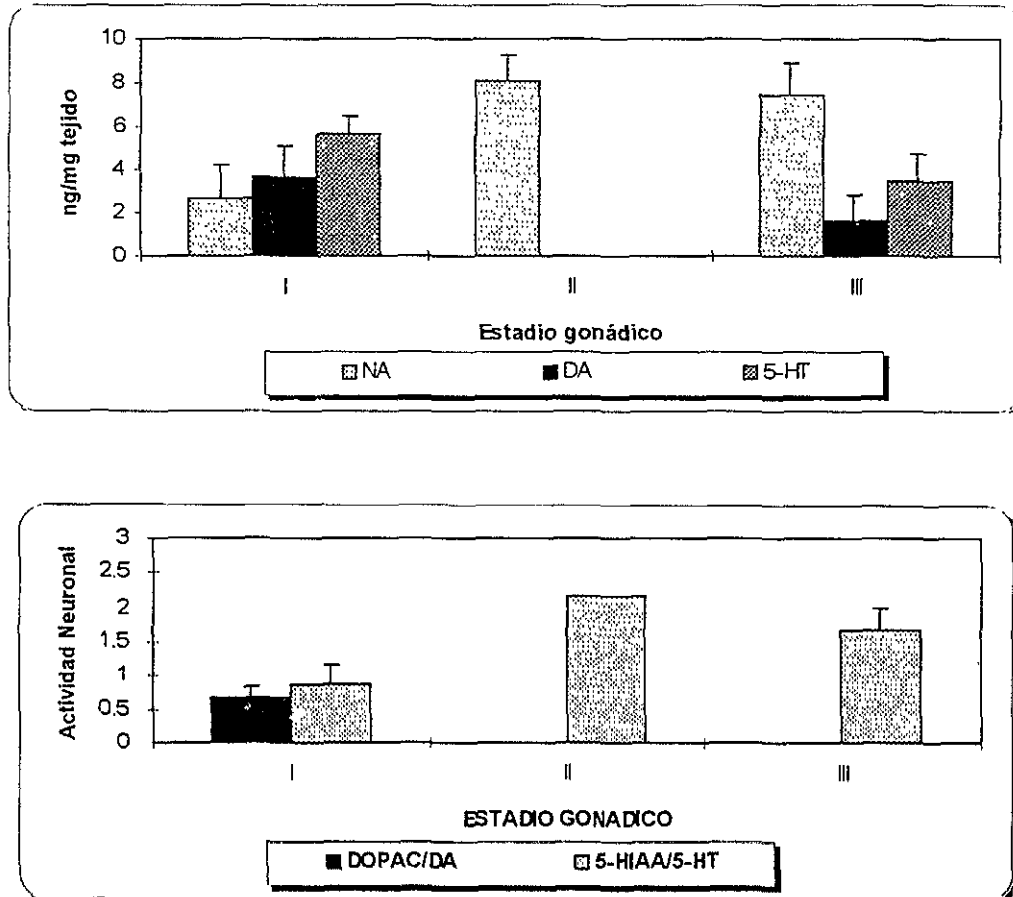
La concentración de NA en el hipotálamo de los machos sometidos a éstas condiciones, son similares independientemente del grado de desarrollo sexual, mientras que las concentraciones de DA y 5-HT se incrementan con el mayor desarrollo sexual. La actividad de las neuronas dopaminérgicas se registró solamente cuando los animales se encontraron en estadio intermedio de desarrollo gonadal, mientras que la actividad de las neuronas de serotonina se registro en baja escala en todos los estadios de desarrollo.

Gráfica 22. Media \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias hembras, mantenidas a 30°C y fotoperiodo de 12/12 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



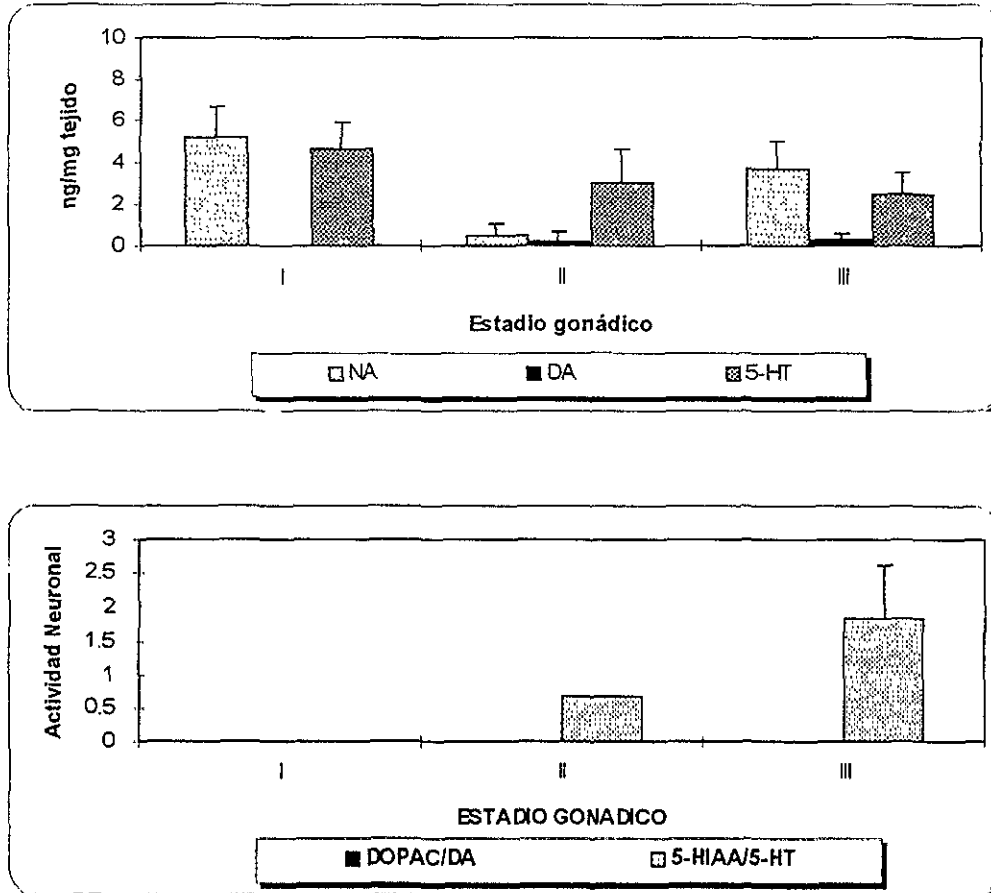
La concentración de NA en el hipotálamo de las hembras mantenidas a 30°C y con fotoperiodo de 12/12 l/o, es mas alta cuando las hembras se encuentran en un estadio de maduración intermedio (II); en el caso de la DA sólo alcanzó valores cuantificables cuando las hembras se encontraban en estadio de maduración II. La concentración de 5-HT disminuye conforme se incrementa el desarrollo sexual. Por lo que se refiere a la actividad de las neuronas dopaminérgicas, ésta se registra sólo en los animales en estadio II y la actividad de las serotoninérgicas aumenta al pasar de inmaduros a intermedios y se mantiene hasta que son maduras.

Gráfica 23. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias machos, mantenidos a 25°C y fotoperiodo de 24/0 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



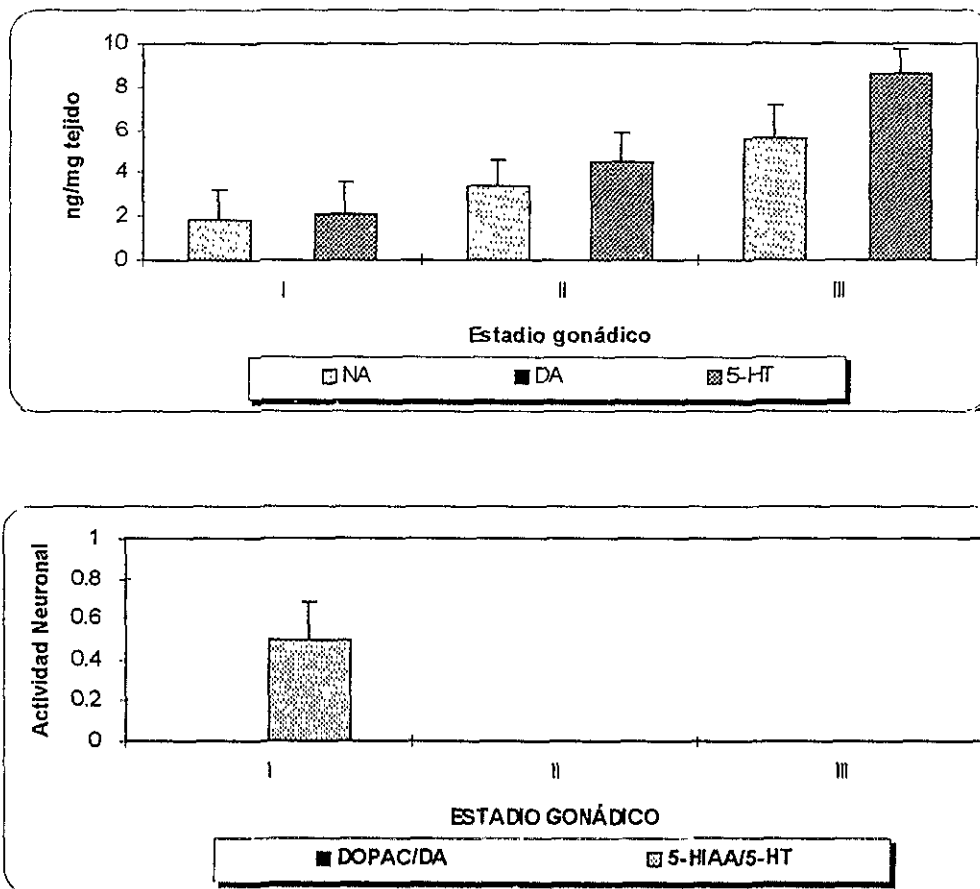
La concentración de NA en el hipotálamo de los machos mantenidos a 25°C y fotoperiodo de 24/0 l/o es mayor cuando los animales alcanzaron un grado de maduración sexual avanzado que cuando eran inmaduros. La concentración de DA y 5-HT disminuye al ser maduros. La actividad de las neuronas dopaminérgicas únicamente se registró en animales inmaduros sexualmente, mientras que la actividad de las neuronas serotoninérgicas, es mas alta cuando los animales son maduros (estadios II y III) (gráfica 23).

Gráfica 24. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias hembras, mantenidas a 25°C y fotoperiodo de 24/0 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



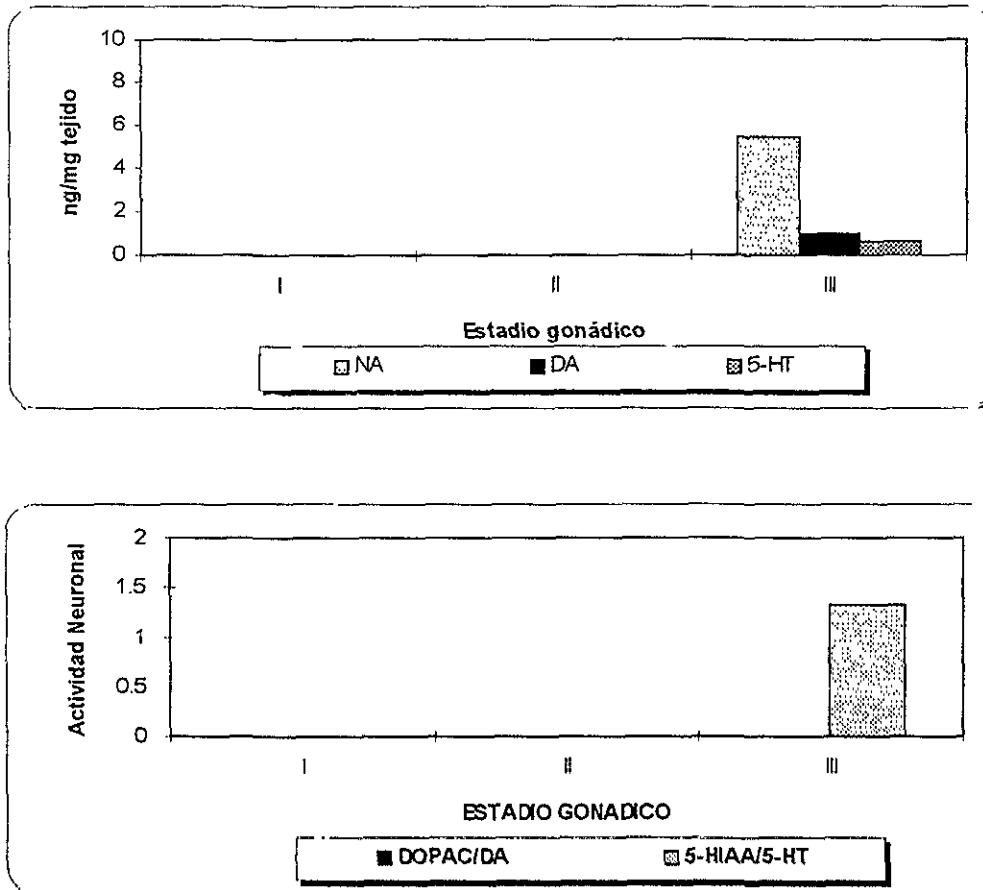
En las hembras mantenidas en 30°C y luz continua, la concentración de NA en el hipotálamo es mayor en los animales inmaduros, disminuye en los animales con maduración sexual intermedia y vuelve a aumentar al alcanzar la maduración sexual. La concentración de DA es similar y baja en los dos últimos estadios, mientras que la concentración de 5-HT disminuye conforme las hembras avanzan en su desarrollo sexual. En este caso, únicamente se registró actividad de las neuronas serotoninérgicas, siendo mayor la actividad cuando las hembras fueron adultas.

Gráfica 25. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias machos, mantenidos a 30°C y fotoperíodo de 24/0 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



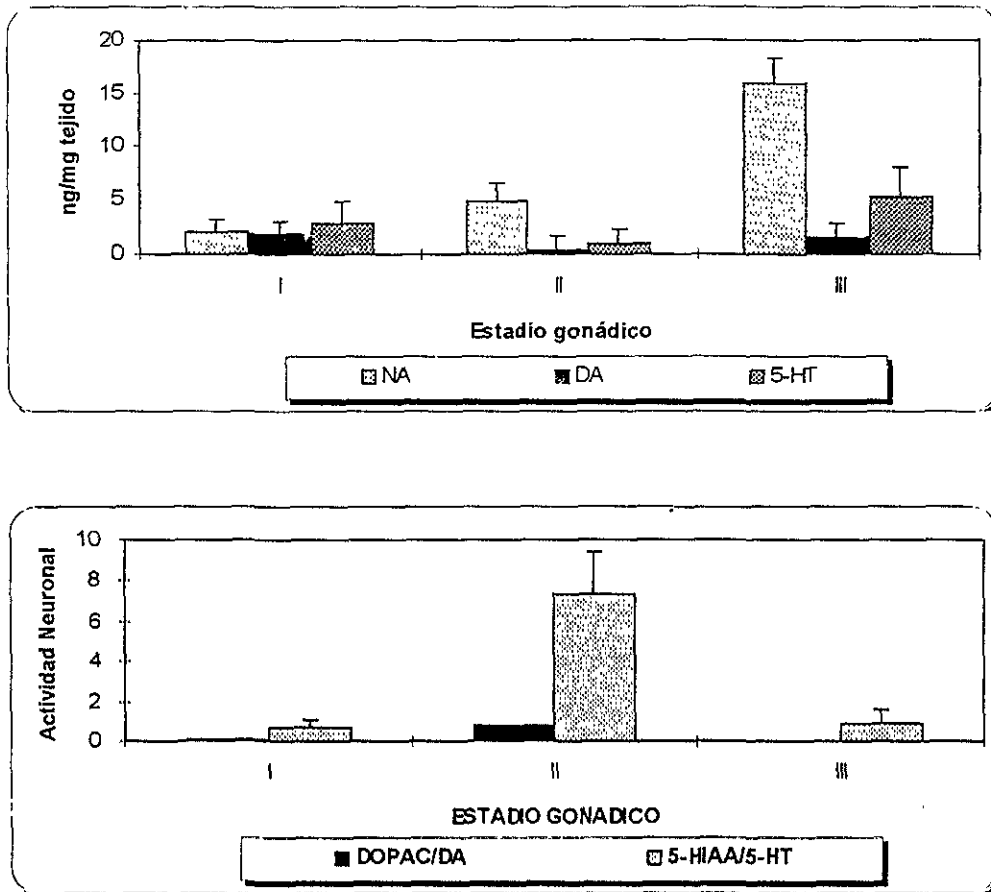
En esta gráfica se puede apreciar que la concentración de NA y 5-HT registradas en el hipotálamo de los machos sometidos a 30°C y 24/0 l/o aumenta conforme se incrementa el grado de desarrollo gonadal. La actividad de las neuronas dopaminérgicas, únicamente se registró para los machos que se encontraban en estadio de desarrollo gonadal inicial.

Gráfica 26. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias hembras, mantenidas a 30°C y fotoperiodo de 24/0 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



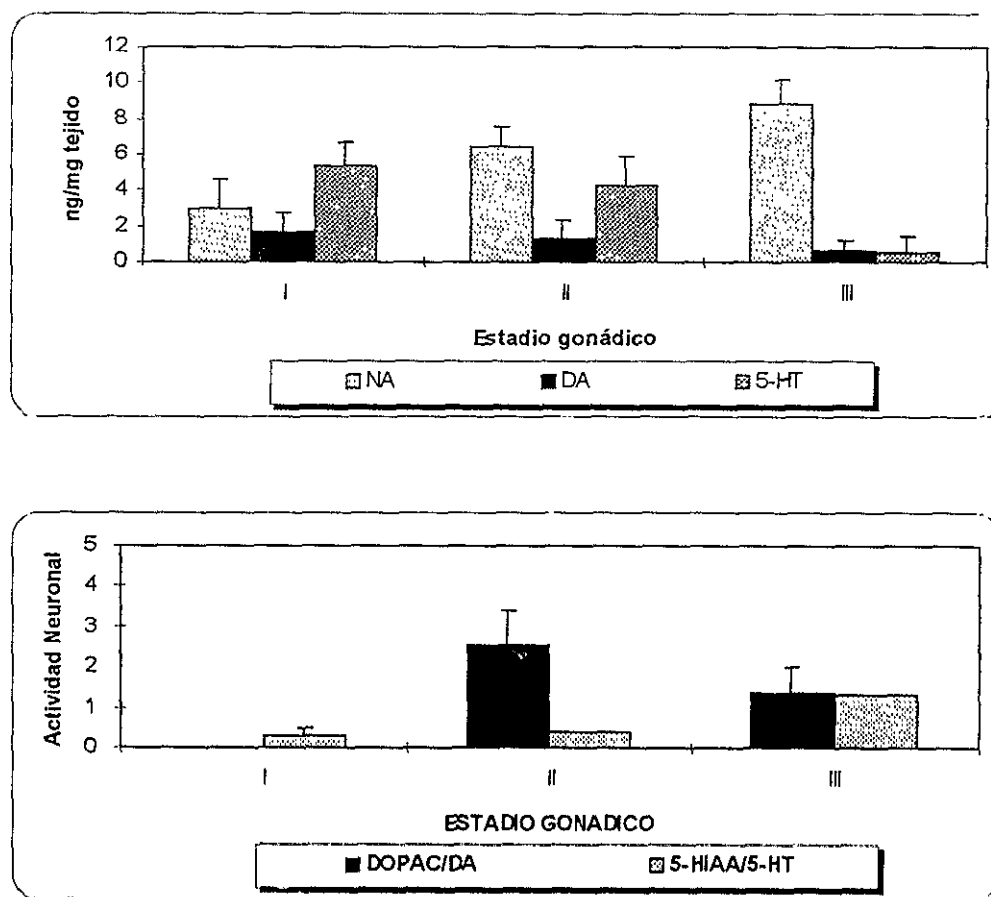
La concentración de los diferentes neurotransmisores cuantificados en el hipotálamo de las hembras sometidas a temperatura de 30°C y luz constante, se aprecia que los tres neurotransmisores se pudieron cuantificar en aquellos animales que alcanzaron el máximo estadio de maduración sexual.

Gráfica 27. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias machos, mantenidos a 25°C y fotoperiodo de 0/24 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



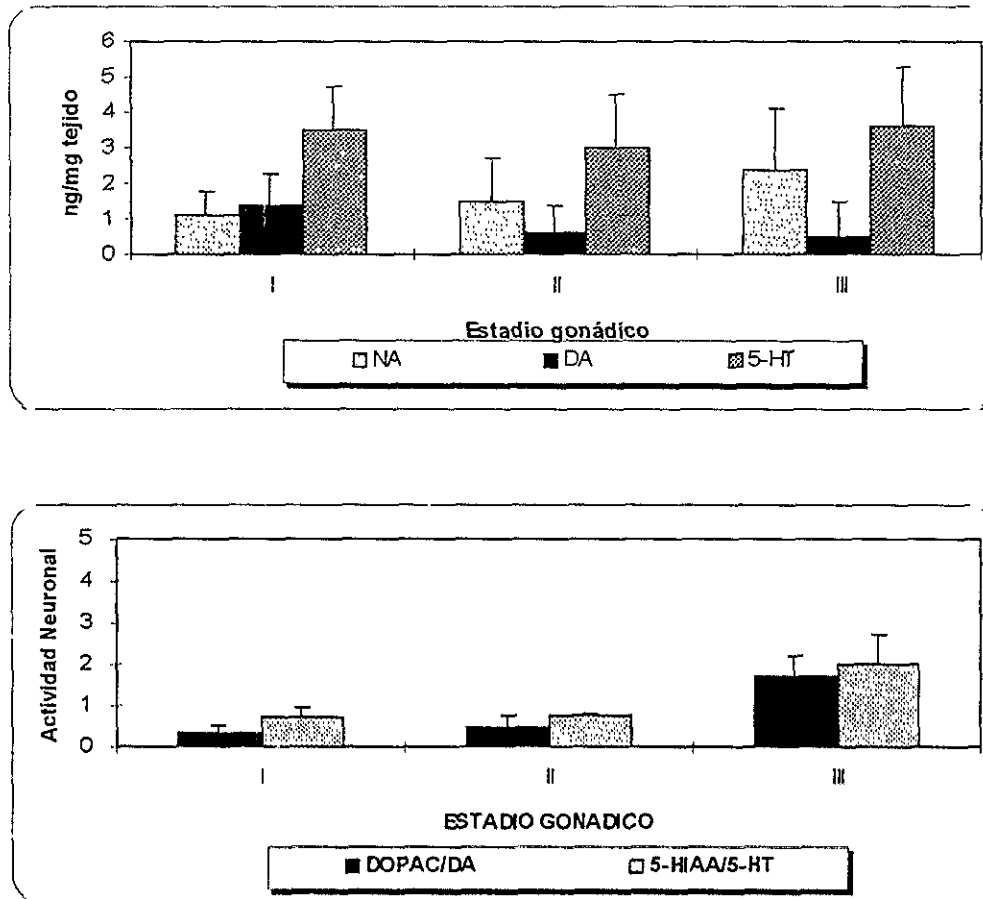
La concentración de NA en el hipotálamo de los machos mantenidos a 25°C y oscuridad constante se incrementa conforme avanza el desarrollo gonadal, mientras que las concentraciones de DA y 5-HT disminuyen hacia el estadio II y aumentan su valor en el estadio de mayor desarrollo sexual. La actividad neuronal se registró en las neuronas serotoninérgicas, las que presentaron actividad en todos los estadios, la mayor actividad se presentó cuando los machos se encontraban en estadio de desarrollo II.

Gráfica 28. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias hembras, mantenidas a 25°C y fotoperiodo de 0/24 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



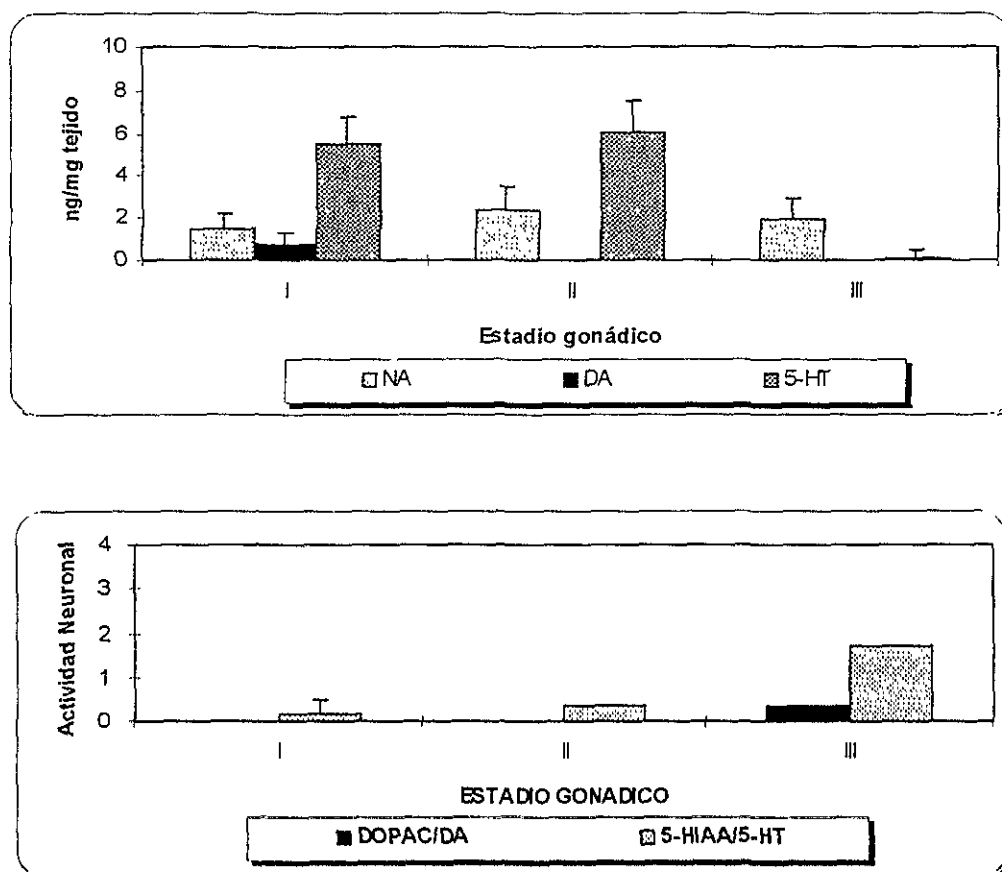
Para el caso de las hembras mantenidas en condiciones de 25°C y obscuridad total, la concentración de NA aumenta conforme se incrementa el desarrollo sexual, comportamiento inverso al observado para DA y 5-HT. Comportamiento similar se vio en la actividad neuronal serotoninérgica, e inverso en la actividad de las neuronas dopaminérgicas.

Gráfica 29. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias machos, mantenidos a 30°C y fotoperiodo de 0/24 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



La concentración de los neurotransmisores registrada en el hipotálamo de los machos sometidos a temperatura alta (30°C) y oscuridad continua muestra que la concentración de NA aumenta conforme se incrementa el desarrollo gonadal, mientras que la concentración de DA se comporta de manera inversa, mientras que la concentración de 5-HT que se mantiene con valores similares. La actividad de las neuronas dopaminérgicas y serotoninérgicas aumento conforme se incrementa el grado de desarrollo gonadal.

Gráfica 30. Promedio \pm e.e.m. del contenido de los neurotransmisores (NA, DA y 5-HT) y de la actividad de las neuronas en el hipotálamo de las tilapias hembras, mantenidas a 30°C y fotoperiodo de 0/24 l/o en función del Índice gonadosomático registrado al final del estudio.



La concentración de los diferentes neurotransmisores cuantificados en el hipotálamo de las hembras sometidas a temperatura de 30°C y obscuridad constante indica que la concentración de NA, es similar en todos los estadios de desarrollo gonadal, mientras que la DA sólo se cuantificó en las hembras en estadio de desarrollo inmaduro. La concentración de 5-HT fue mínima en los animales maduros. La actividad de las neuronas serotoninérgicas se incrementa en las hembras maduras, estadio en el que también se registra la actividad dopaminérgica.

DISCUSIÓN**Densidad**

Cuando se consideran los efectos de los factores abióticos sobre el crecimiento, es conveniente asumir que cada pez va a responder como un ser independiente en su alimentación y crecimiento sin tomar en cuenta las actividades de cualquier otro miembro del grupo. Sin embargo, la relación de los miembros de un grupo de peces es afectada por el número de individuos, el espacio, la talla y la especie, lo que provoca la competencia por espacio y alimento, creando patrones conductuales de defensa y dominio dentro del grupo (Jones, 1976; Brett, 1979).

Los resultados obtenidos en este estudio indican que el crecimiento de *Oreochromis niloticus* durante las primeras etapas de desarrollo no se vió muy afectado por el número de individuos presentes, sino por el grado de dominancia que se presenta entre ellos por la diferencia en tamaño, competencia por espacio, alimento y a la territorialidad que marcan como indicios de su dominio con el resto del grupo. Esto parece ser consecuencia del grado de desarrollo gonadal que van adquiriendo durante el transcurso del experimento (tres meses), aspectos que no se pueden percibir cuando se trabaja a gran escala, como lo es el caso de los cultivos en sistemas naturales o artificiales (presas, lagos, lagunas ó estanques). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Jones (1976) para Tilapia y Billard *et al.* (1981), quienes mencionan que la presión social, dada por altas densidades puede ser directa (agresión) o indirecta (feromonas) e interferir con la fecundidad y la etapa final de la reproducción independientemente de la disponibilidad de alimento.

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con lo reportado por Hepher y colaboradores en 1989, que al trabajar con la combinación de varias especies de carpa y un híbrido de tilapia, observaron que la tasa de crecimiento presentó una relación inversa con la densidad, lo que atribuyeron a la limitación de alimento natural. Moore *et al.* (1994), quienes trabajaron con crías de *Stizostedion vitreum* observaron que no existe

diferencia en el crecimiento cuando son sometidos a diferentes densidades de almacenamiento (20, 50 y 60 crías/l), pero si presentaron problemas de supervivencia debido principalmente al canibalismo o las lesiones ocasionadas por ataques intraespecíficos. Berg y colaboradores en 1996 al trabajar con *Salmo salar* bajo diferentes densidades de carga (20, 30 y 40 kg/m³) y dos fotoperiodos (20/4 y 24/0 L/O), concluyen que no existe diferencias en la tasa de crecimiento cuando se trabaja con diferentes densidades, mientras que el efecto del fotoperiodo de luz continua reduce la incidencia de la maduración sexual.

Fotoperiodo

De los resultados obtenidos bajo diferentes condiciones de fotoperiodo, se tiene que las hembras alcanzaron mejor crecimiento en longitud patrón, peso y desarrollo gonadal al ser expuestas a condiciones de oscuridad continua, mientras que a los machos les fue favorable la exposición a la luz durante las veinticuatro horas del día. Brett (1979), menciona que el exponer a los peces a condiciones de oscuridad continua por 24 horas es depresivo, mientras que la exposición a iluminación constante induce a obtener crecimiento cercano al óptimo, además de que la luz actúa como un factor directo que estimula la respuesta del cerebro-hipófisis hacia el sistema endócrino y simpático y que en condiciones naturales induce la producción de GH, así como puede influir en la actividad locomotora en asociación con la estimulación de la tiroides. Asimismo, menciona que aún cuando se administre la hormona de crecimiento y produzca grandes incrementos en la tasa de crecimiento, la luz es un poderoso factor ambiental que en condiciones experimentales da resultados poco significativos.

Los resultados obtenidos bajo diferentes fotoperiodos se apoyan en lo argumentado por Okuzawa *et al.* (1989), que al trabajar con Honmoroko *Gnathopogon caeruleus*, (pequeño pez de aguas dulces que presenta migración estacional, en primavera se encuentra en aguas donde existe vegetación abundante apropiada para la alimentación de las crías y la temperatura del agua se encuentra entre 12 y 14°C en abril y 25 a 27°C en julio, para posteriormente migrar a zonas profundas (60 a 80 m) en noviembre, lugar

en donde pasa el invierno) reportan que la especie responde a fotoperiodos largos (15 horas luz) y a altas temperaturas (20 a 24°C) del agua y no así a temperaturas bajas, además de que a altas temperaturas y fotoperiodos largos las hembras obtuvieron mayor maduración gonadal que los machos. Además de que las concentraciones de hormonas esteroides y gonadotrópicas también responden al fotoperiodo, lo que es más evidente a temperaturas altas que bajas. Los estudios de la influencia de luz sobre el crecimiento arrojan resultados complejos y confusos, debido probablemente a la multiplicidad de formas en que la luz puede actuar (cualitativa, cuantitativa y periódicamente), así como por su interacción con los otros factores ambientales, particularmente la temperatura y posiblemente con los ritmos internos (diarios y estacionales) del pez.

Temperatura

La temperatura puede actuar como un factor controlador de los requerimientos metabólicos de la ingesta de alimento, sin embargo el crecimiento de los organismos responde a la temperatura de diferentes formas.

De los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir que no existen diferencias al someter a *O. niloticus* a diversas condiciones de temperatura y fotoperiodo. Sin embargo, es posible observar que a mayor temperatura se obtiene mejor crecimiento tanto en longitud como en peso.

En las hembras que se someten a condiciones de temperatura y fotoperiodo combinadas, el mayor crecimiento se dió bajo condiciones de iluminación continua y alta temperatura y los machos bajo condiciones de iluminación similar (12/12 L/O) y temperatura baja, sin que esto implique que las condiciones extremas sean las adecuadas, ya que como menciona Brett (1979), el crecimiento bajo condiciones de iluminación continua es cercano al óptimo y bajo oscuridad es depresivo. Asimismo, Andersson *et al.* (1992), en el pez tres espinas *Gasterosteus aculeatus*, observaron que durante el invierno es influenciado por los efectos de fotoperiodos largos (16/8 L/O) en combinación con altas temperaturas (20°C), estimulando el desarrollo de las

características sexuales secundarias en los machos, mientras que a fotoperiodos cortos (8/16 L/O) en combinación con altas (20°C) o bajas (4°C) temperaturas no se observan cambios. Estos resultados que fueron explicados por la capacidad de unión de la GnRH a su receptor de alta afinidad en la hipófisis, y los efectos del fotoperiodo sobre la actividad celular de GtH puede ser mediado vía cambios en la liberación de GnRH o por algunos otros componentes neuroendócrinos, como el sistema dopaminérgico. La baja concentración de GnRH puede estar relacionada con los efectos inhibitorios de baja temperatura.

Razani *et al.* (1987), reportan que las hembras de carpa dorada (goldfish) alcanzan la maduración gonadal cuando son expuestas a fotoperiodo de 14 - 16 horas luz y temperatura de 24°C a finales de otoño, mientras que cuando fueron expuestas a fotoperiodo corto hubo regresión gonadal, y concluyen que dichas diferencias pueden deberse a que los experimentos fueron llevados a cabo en diferentes estaciones del año.

De los factores ambientales que modulan los procesos en salmónidos, pez bandera, pez sol y otros, el fotoperiodo es el principal factor (Bromage *et al.*, 1984), mientras que la temperatura lo es para muchos ciprinidos y peces de aguas templadas. Existen evidencias de que el fotoperiodo y la temperatura juntos regulan la maduración y el desove de especies de agua templada (Lam, 1983).

De los resultados obtenidos en este estudio en diversas épocas del año, se puede concluir que no existe diferencia en el crecimiento de los animales expuestos a diferentes condiciones de temperatura y fotoperiodo, si nos basamos únicamente en la longitud y el peso, lo cual significaría que no importa en que época se sometan a experimentación si lo que nos interesa es su crecimiento. Pero si lo importante es llevarlos a reproducción se puede observar que durante la época de primavera-verano e invierno se alcanzaron los valores más altos para el peso gonadal y por consiguiente el índice gonadosomático, lo que muestra que esta especie presenta dos épocas de reproducción bien marcadas, independientemente de la reproducción parcial que se da a lo largo del año. Resultados similares fueron observados por Gómez, *et al.* (1993), quienes trabajaron en sistemas naturales en el estado de Morelos y reportan la

existencia de dos épocas de reproducción, una en verano y la otra en invierno, con registro de crías en cualquier época del año.

Resultados que son contradictorios a lo esperado, debido a que *O. niloticus* es una especie de aguas templadas y se ha reportado que para su reproducción es necesario mantenerla en temperaturas superiores a los 22°C (Fishelson, 1966). Sin embargo, dentro de las características reproductivas para la especie, Macintosh (1995) describe que el ciclo reproductivo completo se lleva a cabo en un mes, por lo tanto, bajo condiciones ambientales favorables una hembra del género *Oreochromis* normalmente producirá varias camada de crías en un año. Problema que pierde fuerza, debido a que las hembras no están sincronizadas para llevar a cabo la reproducción por grupos, sino por pequeños lotes, lo que da como resultado finalmente una producción continua, pero a una tasa baja (Little *et al.*, 1993).

Gonadotropinas

La ovulación en los teleósteos, así como de otros vertebrados es regulada por factores endógenos que inducen y regulan los cambios preovulatorios en los ovocitos y folículos; algunos de esos factores son GnRH, el factor inhibidor de la liberación de gonadotropinas del área preóptica (GRIF), las gonadotropinas hipofisarias (GtH) y mediadores ováricos locales de acción GtH (esteróides y prostaglandinas) y por factores exógenos que modulan la secreción de los factores endógenos.

Los mecanismos endócrinos que median la regulación ambiental de la reproducción de los peces no es muy clara, debido a que se han realizado pocos estudios sobre los efectos de los factores ambientales sobre la secreción de las gonadotropinas y de los esteroides gonadales (Peter & Crim, 1979; Peter, 1981). La inducción de los desoves con hormonas se lleva a cabo usualmente en peces que no desovan espontáneamente en cautiverio y para especies que desovan naturalmente en confinamiento, se hace para sincronizar a varias hembras y obtener mayor producción de crías (Ayson, 1991).

De los resultados obtenidos al aplicar PMSG y HCG individuales o combinadas, se concluye que la mejor respuesta se obtiene al suministrar 9 u.i. PMSG + 10 u.i. HCG ó bien 9 u.i. de PMSG, mientras que cuando se aplica HCG sola en diferentes dosis, los mejores resultados se obtuvieron con la aplicación de 50 u.i. Sin embargo, no se puede decir que la aplicación de éstas hormonas sea efectivo, debido a que el experimento no se continuo hasta la ovulación, además de que la apariencia (lechosa) y consistencia (muy frágil al tacto, lo que provocaba que al simple contacto se reventara el ovario y los óvulos) de los ovocitos que permanecían en las gónadas fue diferente a la que presentan cuando maduran naturalmente (color amarillo y no revientan al tacto), resultados que hacen suponer que la aplicación de esta hormona pudo provocar atresia folicular, y se apoya con lo argumentado por Babiker & Ibrahim (1979), quienes mencionan que la administración de una hormona efectiva puede dar como resultado el incremento en la maduración e inducir la ovulación dependiendo del tipo de hormona y la especie de peces. Los mismos investigadores al trabajar con hembras maduras de *Tilapia nilotica* y aplicar de 1200 a 12000 u.i./kg de HCG y 1200 a 12000 u.i./kg de PMSG, obtuvieron el total de animales desovados cuando aplicaron la máxima dosis de HCG con valor de 3.59 de índice gonadosomático y un aumento del 34% en el peso de los peces que ovularon, además de que no obtuvieron resultados positivos al aplicar PMSG.

Según Davies *et al.* (1986), la inducción del desove por aplicación de HCG (2000 U.I./kg), en hembras de carpa común (*Cyprinus carpio*) adultas de 300 a 1600 g, y con cambios en el fotoperiodo y la temperatura, se observó que los cambios de fotoperiodo y temperatura de 12/12 L/O y 16°C a 16/8 L/O y 24°C dan mejores resultados que los cambios de 16/8 L/O y 16°C a 12/12 L/O y 24°C, y mencionan que el fotoperiodo puede estar relacionado con la etapa final de maduración de la carpas hembras, además de reportar que las carpas no desovan a los 16°C aún cuando presenten óvulos maduros y concluyen que bajo estas condiciones de experimentación se podrían obtener desoves de esta especie en cualquier época del año.

En la *Anguilla japonica*, los tratamientos prolongados con HCG estimulan la función esteroideogénica de las células intersticiales testiculares, con base en las características

ultraestructurales (Sugimoto & Takahashi, 1979); y el metabolismo de los andrógenos en los testículos de la *Anguilla anguilla* (anguila plateada europea) (Eckstein *et al.*, 1982).

En mamíferos y específicamente en ratas, es generalmente aceptado que el sistema neurotransmisor catecolaminérgico modula la liberación de la LH por acción sobre los reguladores neuroendócrinos hipotalámicos; en general la noradrenalina (NA) estimula la liberación de LH por el incremento en la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH); sin embargo, también se ha reportado la influencia inhibitoria de NA sobre la liberación pulsátil de LH (Kordon *et al.*, 1994).

En teleósteos, la liberación de catecolaminas esta bajo el control de fibras nerviosas colinérgicas y factores humorales, por lo que se considera que éstos son los intermediarios entre los ciclostomos (carecen de inervaciones nerviosas para la producción de esteroides interrenales y células cromafines) y los mamíferos, en quienes la secreción adrenomedular de catecolaminas es completamente dependiente de inervaciones colinérgicas (Wendelaar, 1993).

La liberación de las hormonas gonadotrópicas en peces teleósteos es regulada por factores estimulatorios e inhibitorios hipotalámicos, liberados a la hipófisis anterior por inervación directa (Guerrero *et al.*, 1990). Estudios sobre el control de la secreción de gonadotropinas han mostrado que la liberación de GnRH es regulada por diversas monoaminas y sus efectos pueden ser tanto estimulatorios como inhibitorios (Chang & Peter, 1984; Peter *et al.*, 1986, y Somoza & Peter, 1991). La NA estimula la secreción de GTH-II por estimulación de las neuronas GnRHérgicas en el área preóptica anterior del hipotálamo y por un menor efecto directo sobre los gonadotropos en la pars distalis (Chang *et al.*, 1991), mientras que la DA presenta efectos inhibitorios sobre la secreción de las gonadotropinas por acción directa sobre los gonadotropos, además de la inhibición de la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) (Peter, *et al.*, 1991) y la 5-HT presenta acción estimulatoria sobre la secreción de GTH a nivel de hipófisis (Somoza *et al.*, 1988).

De los resultados obtenidos al someter a *Oreochromis niloticus* a condiciones diferentes de temperatura y fotoperiodo, se puede observar en forma general que los animales

expuestos a condiciones de temperatura baja, presentan mayor concentración de NA que aquellos que fueron sometidos a 30°C. Sin embargo, al finalizar los experimentos se registraron animales en todos los estadios de desarrollo sexual, lo que se puede deber primeramente a los efectos de dominio y territorialidad que van adquiriendo conforme se desarrollan, además del comportamiento en la concentración de las diversas monoaminas cuantificadas en el hipotálamo de la tilapia y que de alguna manera estimulan o inhiben la secreción de GnRH, GtH y GH.

Para el caso de los machos de tilapia sometidos a 25°C en diversos fotoperiodos, se observó que la concentración de NA no cambia en comparación con la concentración que se registró en el hipotálamo de las crías, al menos para los peces que se encontraron en estadios de maduración I, mientras que para el estadio II y III dichas concentraciones aumentan sin presentar un patrón definido. A diferencia de lo que sucede con los animales expuestos a altas temperaturas, en quienes las concentraciones de NA disminuyen en los peces que presentaron estadio gonadal I, mientras que para los organismos en estadio gonadal II y III, las concentraciones de NA son tan variables que no se pueden atribuir al efecto de temperatura o fotoperiodo al que fueron sometidos. Dichos resultados concuerdan con lo observado por Andersson, *et al.* (1992), en el pez de tres espinas cuando trabajaron a dos temperaturas.

En el caso de las hembras, la concentración de NA aumentó significativamente al final del estudio para aquellas que se mantuvieron expuestas a 25°C en estadios I y III, mientras que las que se sometieron a 30°C no presentaron un comportamiento definido probablemente debido a que durante el experimento murió un gran número de ellas a causa de las lesiones provocadas por los machos que presentaban desarrollo gonadal avanzado e intentaban inducir a la ovoposición a las hembras que se encontraban en el mismo acuario.

Todo esto hace suponer que el sistema noradrenérgico se encuentra maduro a partir de los primeros días de vida y que si su metabolito no se detecta, podría ser debido a que no tiene la cantidad suficiente de la enzima encargada de convertir DA a NA (dopamina β -hidroxilada), lo que implicaría que toda aquella DA que es liberada al espacio

intersináptico es atrapada en su receptor; o es metabolizada por las enzimas catecol-o-metil transferasa (COMT) y monoamino oxidasa (MAO) para su degradación.

La concentración de DA en el hipotálamo de los machos, sometidos a condiciones de 12/12 l/o se incrementa a mayor temperatura, mientras que para los animales que fueron expuestos a luz y oscuridad continua no presentan un patrón definido, por fotoperiodo o temperatura. Sin embargo, la concentración de DA presente en el hipotálamo es muy baja en comparación con la NA y la 5-HT, tanto para hembras como para machos que se encontraban en el mismo estadio de desarrollo gonadal. La actividad de las neuronas dopaminérgicas fue mayor en el hipotálamo de los machos que no se desarrollaron gonadalmente y se encontraban bajo condiciones de baja temperatura y fotoperiodo de 12/12 l/o, así como en aquellos que se mantuvieron bajo condiciones de alta temperatura y fotoperiodo de oscuridad continua y que fueron los que mejor desarrollo gonadal alcanzaron, lo que significa que la DA está actuando como inhibidor de la GnRH a baja temperatura y estimulador a alta temperatura. Se debe de recordar que la DA es una catecolamina que se sintetiza antes que la NA, lo que implica que si el sistema dopaminérgico se encuentra lo suficientemente maduro y se tiene la cantidad adecuada de tirosina, la concentración de DA presente en el hipotálamo de la tilapia debería ser adecuada como inhibir al sistema GnRHérgico en las terminales nerviosas, resultados similares a los obtenidos por Según Yu & Peter, 1991 quienes trabajaron con goldfish (*Carassius auratus*); o bien, inhibidor de la liberación de GtH (Chang & Peter, 1983). Estos resultados concuerdan con lo observado por Chang *et al.*, (1983) en la carpa dorada, donde al bloquear la síntesis de dihidroxifenilalanina (L-DOPA), el precursor de dopamina, con α -metil-p-tirosina y bloqueando la conversión de L-DOPA a DA con carbidopa, provocaron incremento en las concentraciones de GtH. Sin embargo, el tratamiento con dietilditiocarbamato (DDC), el cual bloquea la conversión de DA a NA, no tuvo efecto en las concentraciones de GtH. Por lo que sugieren que la DA actúa como un inhibidor de la liberación de GtH, además de que carbidopa no pasa la barrera hemato-encefálica por lo que estaría actuando a nivel de hipófisis.

Asimismo, se ha probado que la DA es una catecolamina que estimula la liberación de GH en goldfish y sus efectos dependen del estado de desarrollo gonadal (Wong *et al.*,

1992), lo que hace suponer que cuando los animales presentan mayor concentración de DA en el hipotálamo, se obtiene mejor crecimiento gonadal.

La concentración de DA en el hipotálamo de las tilapias hembras mantenidas bajo 12 horas luz, 12 horas oscuridad, aumentó conforme los animales tuvieron mayor desarrollo gonadal, contrario a lo que sucede con aquellas expuestas a condiciones de oscuridad total, en donde la concentración de DA es inversa al estadio de desarrollo gonádico. Estos resultados pueden indicar que la DA inhibe la liberación de la GnRH, por lo que no todos los peces alcanzaron un alto grado de desarrollo gonadal y las que mejor se desarrollaron fue por la baja concentración de éste neurotransmisor. Dichos resultados se confirman con lo expuesto por Crim (1981), quien reporta que algunas catecolaminas inhiben de liberación de las hormonas gonadotrópicas (GtH) cuando se llevan a cabo cultivos *in vitro* de hipófisis de trucha arco-iris, específicamente que la DA no solo inhibe la liberación basal y espontánea de la GtH, sino que también disminuye la respuesta a LHRH. Peter *et al.* (1986 y 1991), argumentan que la DA tiene efectos inhibitorios sobre la secreción de las gonadotropinas por acción directa sobre los gonadotropos y que ese efecto sobre la liberación de GtH-II es efectivo en segundos, una vez que las células de la hipófisis son expuestas a DA o a un agonista no-específico.

La concentración de 5-HT, de su metabolito (5-HIAA), así como de la actividad de la neurona (5-HIAA/5-HT), aumentaron con respecto a las registradas a la edad de 30 días, lo que podría indicar que las neuronas serotoninérgicas, así como su desarrollo dendrítico va correlacionado con la edad, con la tasa de liberación de la 5-HT y su metabolización por parte de MAO.

En las tilapias macho, la concentración de 5-HT en el hipotálamo aumenta para la mayoría de los animales de manera paralela con el desarrollo gonadal, independientemente de la temperatura y el fotoperíodo al que fueron sometidos. Dicho aumento se refleja directamente en la concentración del metabolito y la tasa de cambio de las neuronas serotoninérgicas, que de acuerdo con Guerrero *et al.* (1990), un decremento en la concentración de las áminas refleja un incremento del neurotransmisor; mientras que un incremento en la concentración de áminas indica baja actividad neural.

En el hipotálamo de los peces machos, mantenidos en condiciones de 25°C y fotoperiodo extremo, la concentración de 5-HT es baja con respecto a los sometidos a condiciones de 12 horas luz, 12 obscuridad, a diferencia de lo que sucede cuando los animales se mantuvieron bajo condiciones de 30°C y los animales presentaban el estadio de madurez III (maduros sexualmente), en quienes la concentración registrada de NA y 5-HT son muy semejantes, al menos para aquellos que fueron sometidos a 24/0 y 0/24 l/o. Estos resultados pueden ser interpretados como un indicio de que NA y 5-HT estimulan la secreción GtH-II por estimulación de las neuronas GnRHérgicas en el área preóptica del hipotálamo y por efecto directo sobre los gonadotropos en el pars distalis tal y como lo proponen Trudeau *et al.* (1993).

En las tilapias machos, no se observaron cambios significativos en el GSI de los animales tratados con gonadotropinas comparados con los animales sin tratar, aunque la concentración de NA y 5-HT en el hipotálamo se incrementó significativamente. Esta respuesta de las gónadas de los machos no puede ser explicada por la falta de receptores a las gonadotropinas en los testículos, ya que la administración de 30 u.i. de hormona coriónica humana (hCG) induce incremento significativo en el peso de las gónadas. Para explicar estos resultados se propone que a ésta edad el complejo hipotálamo-hipófisis de los machos no está listo para incrementar la secreción de GnRH en respuesta al incremento en la concentración de NA y 5-HT.

En las hembras la concentración de 5-HT fue baja en los animales con mayor desarrollo gonadal, a excepción de las tilapias mantenidas bajo condiciones de 12/12 y 30°C. El hecho de que la actividad neural sea mayor en las hembras en estadio gonadal III, indica que el comportamiento de éste neurotransmisor sería independiente de la temperatura y el fotoperiodo al cual se sometan las tilapias cuando se les analiza en función del desarrollo gonadal. El aumento de la actividad neural se puede deber a que la concentración de 5-HIAA es regulada por el incremento de la actividad de MAO como consecuencia de una alta concentración de estrógenos. Estudios *in vivo* en algunos teleósteos muestran que los estrógenos modulan la actividad de MAO dependiendo de la estación del año (Manicham & Joy, 1989; Senthilkumaran & Joy, 1993 y Ching-Lin & Li-Hsueh, 1997).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Los presentes resultados difieren de los reportados por Guerrero *et al.*, (1990) en *Pygocentrus notatus*; Chang y Peter (1984), Trudeau *et al.*, (1993b) en *Carassius auratus*, y Senthilkumaran & Joy, (1993) en *Heteropneustes fossilis*, quienes describen cambios en la concentración de las catecolaminas en el hipotálamo de los animales relacionadas con el desarrollo gonadal. Dichas diferencias podrían ser explicadas en función de su ciclo reproductivo, ya que la tilapia *Oreochromis niloticus*, es un reproductor precoz y *Carassius auratus*, *Pygocentrus notatus* y *Heteropneustes fossilis*, presentan un periodo reproductivo anual.

Estos resultados indican que existe diferencia sexual en la respuesta de la tilapia a varios fotoperiodos sobre el índice gonadosomático y el peso de las gónadas, siendo las hembras más sensibles. Dichas diferencias sexuales no parecen estar relacionadas con los sistemas hipotalámicos catecolaminérgico y serotoninérgico, sino con algún otro factor endógeno que pudiera intervenir durante el periodo de desarrollo gonadal.

El efecto del fotoperiodo observado en este estudio podría ser mediado por otros neurotransmisores además de las catecolaminas, como NPY, catecolestrógenos, GABA. Peng *et al.*, (1993) demostraron que en goldfish, el gNPY estimula la secreción de GH y GtH-II *in vitro* e *in vivo*. De Leeuw *et al.* (1985), han sugerido un posible mecanismo para el efecto de retroalimentación negativo de los esteroides sexuales sobre el eje cerebro-hipófisis por el cual los estrógenos son convertidos a catecolestrógenos, quienes compiten con DA por la catecol-o-metiltransferasa.

Los presentes resultados permiten sugerir que hay diferencias sexuales en el mecanismo neuroendócrino que regula el crecimiento gonadal en *Oreochromis niloticus*, así como en la participación de las condiciones luz/obscuridad.

CONCLUSIONES

- El crecimiento en peso y longitud de las crías de tilapia *Oreochromis niloticus* no son afectados por la densidad de carga, la temperatura ni el fotoperiodo al que fueron sometidos, mientras no alcancen los 120 días de edad.
- El desarrollo gonadal de los peces de tilapia *Oreochromis niloticus* es influenciado por el fotoperiodo en el que se les mantuvo.
- Con base en el Índice gonadosomático se presentan dos épocas de reproducción; una en la estación de primavera-verano y la otra en invierno.
- La concentración de neurotransmisores en el hipotálamo de *Oreochromis niloticus* es diferente para machos y hembras.
- Las diferencias sexuales parecen no estar relacionadas con el sistema hipotalámico monoaminérgico, sino con algún otro factor endógeno.

PROPUESTAS

Con base en los resultados obtenidos en el estudio de los factores ambientales y neuroendócrinos que regulan la maduración sexual de la tilapia *Oreochromis niloticus*, surgen varias sugerencias para posteriores estudios, algunas de las cuales se mencionan a continuación:

- Para trabajos posteriores se sugiere trabajar con fotoperiodos de 16/08; 12/12 y 08/16 luz/obscuridad.
- Es recomendable trabajar con dos temperaturas, probablemente 20°C y 28°C.
- Es necesario conocer perfectamente la intensidad de luz, con la que se pretenda trabajar a nivel de acuario.
- Al aplicar gonadotropinas, se requiere trabajar con animales mayores a los seis meses de edad, y llevar a cabo la canulación para conocer el estadio de desarrollo gonadal, ó bien hacer la cuantificación de hembras que desovan, número de óvulos y viabilidad.
- Determinar que tipo de GnRH se encuentra presente en *Oreochromis niloticus*.
- Cuantificar la concentración de gonadotropinas hipofisarias.
- Conocer la concentración de las diversas monoaminas hipotalámicas, en diferentes etapas del ciclo reproductivo de la tilapia (crías, alevines, juveniles, maduros).
- Conocer la concentración de las diferente monoaminas en hipotálamo, hipófisis y bulbos olfatorios
- Evaluar la participación del Neuropeptido Y, GABA y de los catecolestroógenos, en el desarrollo gonadal de *Oreochromis niloticus*.

BIBLIOGRAFIA

- Adler, N. T. (1981). **Neuroendocrinology of Reproduction**. Physiology and Behavior. Plenum Press. New York. 555 pp.
- Aguilera, H.P. y P.C. Noriega. (1991). **La tilapia y su cultivo**. Fondo Nacional para el Desarrollo Pesquero. FONDEPESCA. México, D.F. 50 pp.
- Amano, M., K. Aida, M. Okumoto, & Y. Hasegawa. (1992). Changes in salmon GnRH and chicken GnRH-II contents in the brain and pituitary, and GTH contents in the pituitary in female masu salmon, *Oncorhynchus masou*, from hatching through ovulation. **Zool. Sci.** 9: 375-386.
- Andersson, E., B. Borg & H. J. TH. Goos. (1992). Temperature, but Not Photoperiod, Influences Gonadotropin-Releasing Hormone Binding in the Pituitary of the Three-Spined Stickleback, *Basterosteus aculeatus*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 88: 111-116.
- Ayson, F. G. (1991). Induced spawning of rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch) using human chorionic gonadotropin (HCG). **Aquaculture**, 95: 133-137.
- Babiker, M. M. & H. Ibrahim. (1979). Studies on the biology of reproduction in the cichlid *Tilapia nilotica* (L.): effects of steroid and trophic hormones on ovulation and ovarian hydration. **J. Fish Biol.** 15, 21-30.
- Baisa, G. L. A. (1988). Eje Hipotálamo - Hipófisis - Gónadas. *In* **Uso de hormonas en la reproducción de peces**, (Hernández B. S. y F. J. del C. Benítez). Fondepesca. 115. México.
- Billard, R., B. Breton, A. Fostier, B. Jalabert & C. Weil. (1978). *In* **Comparative Endocrinology** (P.J. Gaillard & H.H. Boer, eds). 37-48. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Amsterdam.
- Billard, R., C. Bry & C. Gillet (1981). Stress, Environment and Reproduction in Teleost Fish. *In*: **Stress and Fish**. (Pickering, A. D. ed). 186-208. Academic Press.
- Blake, Ch. A. (1984). **The pituitary gland**. J.J. Head. Editor. U.S.A. 15 pp.
- Brett, J. R. (1979). Environmental Factors and Growth. *In* **Fish Physiology** (Hoar, S.W., D.J. Randall, & J.R. Brett. editores). Vol. VIII, cap. 10, pág. 599-675. Academic Press.
- Bromage, N., J. A. Eliot, J. Springate, & C. Whitehead. (1984). The effects of constant photoperiods on the timing of spawning in the rainbow trout. **Aquaculture**, 43: 213-223 .

- Brown, R. E. (1994). **An Introduction to Neuroendocrinology**. Great Britain at the University Press. Cambridge. 405.
- Bye V. J. 1984. The Role of Environmental Factors in the Timing of Reproductive Cycle. *In Fish Reproduction* (Potts G.W. & R.J. Wootton. eds). 187-205. Academic Press.
- Castañón-Cervantes, O., C. Lugo., M. Aguilar, G. González-Moran & M. L. Fanjul-Moles. (1995). Photoperiodic induction on the growth rate and gonads maturation in the crayfish *Procambarus clarkii* during ontogeny. **Comp. Biochem. Physiol.** Vol. 110A. No. 2: 139-146.
- Crim, L. W. (1981). Control of gonadotropic hormone secretion (GTH) by the rainbow trout pituitary gland. *In Fish Physiology*, (Hoar, W. S., Randall, D.J., and Donaldson, E. M. Eds). Vol. IX A, 97-136. Academic Press, New York.
- Chang, J. P., A. F. Cook, & R. E. Peter. (1983). Influences of catecholamines on gonadotropin secretion in goldfish. *Carassius auratus*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 49, 22-31.
- Chang, J. P. & R. E. Peter. (1984). Effects of dopamine on gonadotropin release in female goldfish, *Carassius auratus*. **Neuroendocrinology** 36: 351-357.
- Chang, J. P. & R. E. Peter. (1984). Influences of Norepinephrine and α -Adrenergic Mechanisms on Gonadotropin Secretion in Female Goldfish, *Carassius auratus*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 55, 89-95.
- Chang, J. P., F. V. Goor & S. Acharya. (1991). Influences of Norepinephrine, and Adrenergic Agonists and Antagonists on Gonadotropin Secretion from Dispersed Pituitary Cells of Goldfish, *Carassius auratus*. **Neuroendocrinology**. 54: 202-210.
- Ching-Lin, T. & W. Li-Hsueh. (1997). Effects of estradiol on the serotonin secretion and turnover in the hypothalamus of male tilapia, *Oreochromis mossambicus*, *in vitro*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 106: 175-180.
- Davies, P. R., Y. Hanyu, K. Furukawa & M. Nomura. (1986). Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp III. induction of spawning by manipulating photoperiod and temperature. **Aquaculture**. 52, 137-144
- De Leeuw, R., D. W. Smit-Van Dijk, J. W. J. Zigterman, J. C. M. Van Der Loo, J. G. D. Lambert & H. J. Th. Goos. (1985). Aromatase, estrogen 2-hydroxylase, and catechol-O-methyltransferase activity in isolated, cultured gonadotropic cells of mature African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). **Gen. Comp. Endocrinol.** 60: 171-177.
- Donaldson, E. M. & G. A. Hunter. (1983). Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. *In Fish Physiology*. (W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson. Eds). Vol. IXB. 351-403. Academic Press.

- Domínguez, R., R. Chávez y M. E. Cruz. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. *In* R. Domínguez (ed) **Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción**. UNAM-PURRUA, México.
- Dominguez, R. (1993). Las secreciones periódicas y la regulación de la ovulación. *In* **Bases celulares y moleculares de la comunicación neuroendócrina**. (Clapp, C, Martínez de la E. G. Eds). U.N.A.M.
- Eckstein, B., S. Cohen, & V. Gilge. (1982). Steroid production in testicular tissue of the European eel. *In* **Fish Physiology**, (Hoar, W. S., Randall, D.J., and Donaldson, E. M. Eds). Vol. IX A, 223-276. Academic Press, New York.
- Everett, J. W. (1988). Pituitary and hypothalamus. Perspectives and overview. *In* **The Physiology of Reproduction**. (Knobil, E. & Neill J.D. Eds). Raven Press. New York. Cap. 26: 1143-1160.
- Fishelson, L., (1966). Cichlidae of the genus *Tilapia* in Israel. **Bamidgeh**, 18. 67-80.
- Freeman, M. E. (1988). The ovarian cycle of the rat. *In* **The Physiology of Reproduction**. (Knobil, E. & Neill J.D. Eds). Raven Press. New York. Cap. 45: 1893-1928.
- Gothilf Y., J. A. Muñoz-Cueto, C. A. Sagrillo, M. Selmanoff, T. T. Chen, O. Kah, A. Elizur & Y. Zohar. (1996). Three Forms of Gonadotropin-Releasing Hormone in a Perciform Fish (*Sparus aurata*): Complementary Deoxyribonucleic Acid Characterization and Brain Localization. **Biol. Reproduction**: 55: 636-645.
- Goldstein, L. (1982). **Fisiología comparada**. Interamericana, México, 454.
- Gómez, M. J. L., R. M. A. Castillo, M. G. Fabila y V. A. D. Zamora, (1993). Reproducción de la tilapia en la Laguna El Rodeo, Estado de Morelos, México. Tópicos de investigación y posgrado. E.N.E.P. Zaragoza. UNAM.
- Groves, D. J. & E. C. Batten. (1986). Direct Control of the Gonadotroph in a Teleost, *Poecilia latipinna*. II. Neurohormones and Neurotransmitters. **Gen. Comp. Endocrinol.** 62: 31-326.
- Guerrero, H. Y., G. Caceres, C. L. Paiva & D. Marcano. (1990). Hypothalamic and Telencephalic Catecholamine Content in the Brain of the Teleost Fish. *Pygocentrus notatus*, during the Annual Reproductive Cycle. **Gen. Comp. Endocrinol.** 80: 257-263.
- Hepher, B., A. Milstein, H. Leventer & B. Tetsch. (1989). The effect of fish density and species combination on growth and utilization of natural food in ponds. **Aquaculture and Fisheries Management** 20 (1): 59-72.
- Hoar, W. S., (1969). Reproduction. *In* "Fish Physiology" (W.S. Hoar & D.J. Randal, eds.), Vol. 3, pp.1-59. Academic Press, New York.

- Hoffmann K. (1981). Photoperiodism in Vertebrates. *In Handbook of Behavioral Neurobiology*. (Aschoff J. ed). Vol. 4. Biological Rhythms 449-474. Plenum Press. New York.
- Holden, M. J. y D. F. S. Raitt. (1975). Manual de ciencias pesqueras. Parte 2. Métodos para investigar los recursos pesqueros y su aplicación. *Doc. Téc. FAO. Pesca*. (115): 1-211.
- Huai-Jen, T., K. Jen-Chien, L. Show-Wan & K. Tsong-Teh. (1994). Growth Enhancement of Juvenile Striped Mullet by Feeding Recombinant Yeasts Containing Fish Growth Hormone. *The Progressive Fish-Culturist*. 56: 7-12.
- INEGI, 1982. Carta de México E-14-5
- Jones, R. (1976). Growth of Fishes. *In Ecology of the Seas* (Cushing D.H. and J. J. Walsh eds) 251-282. W. B. Sanders.
- Kawauchi, H., K. Suzuki, H. Itoh, P. Swanson, N. Naito, Y. Nagahama, M. Nozoki, Y. Nakai & S. Itoh (1989). The duality of teleost gonadotropins. *Fish Physiol. Biochem.* 7;29-38.
- Knobil, E. & J. Hotchkiss. (1988). The menstrual cycle and its neuroendocrine control. *In The Physiology of Reproduction*. (Knobil, E. & Neill J.D. Eds). Raven Press. New York. Cap. 47: 1973-1994.
- Kordon, C., S. Drouva, M. E. Gonzalo & Y. W. Richard. (1994). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation on luteinizing hormone and prolactin. *In: The Physiology of Reproduction*. Raven press (Knobil y J. Neill eds). 1621-1682. New York.
- Krey, L.C. & A.J. Silverman. (1983). Luteinizing hormone releasing hormone. *In Brain Peptides*. (Krieger, D.T. M.J. Brownstein, & J.B. Martín, Eds). John Wiley & Sons. New York. Cap 28: 687-710.
- Lam, T. J. (1983). Environmental influence on gonadal activity in fish. *In "Fish Physiology," Vol. 9, Part B, "Behavior and Fertility Control"* (W. S. Hoar & D. J. Randall, Eds.). pp. 65-116. Academic Press. New York.
- Lagler, K. F., J. E. Bardach, R. R. Miller y D.R.M. Passino, (1984). *Ictiología*. AGT editor, S. A. 489 pág.
- Liley, N. R. & N. E. Stacey. (1983). Hormones, pheromones, and Reproductive behavior in fish. *In "Fish Physiology," Vol. IX, Part B, "Reproduction"* (W.S. Hoar & D.J. Randall, Eds.), pp. 1-64. Academic Press. New York.
- Little, D.C., D. J. Macintosh, & P. Edwards. (1993). Improving spawning synchrony in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Aquaculture and Fisheries Management*. 24: 319-325.

- MacINTOSH, D. J. & D.C. LITTLE. (1995). Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). In **Broodstock Management an Egg and Larval Quality**. (Bromage, N.R. & R. J. Roberts, eds). 277-320. Blackwell Science.
- Morales, D. A. (1991). **La tilapia en México, biología, cultivo y pesquerías**. AGT Editor. México. 190 pp.
- Moore A., M. A. Prage., B. T. Bristow & R. C. Summerfelt. (1994). Influence of Stocking Densities on Walleye Fry Viability in Experimental and Production Tanks. **The Progressive Fish-Culturist**. 56: 194-201.
- Nagahama, Y., W.C. Clarke & W. S. Hoar. (1978). Ultrastructure of putative steroid-producing cells in the gonads of coho (*Oncorhynchus kisutch*) and pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). In **Fish Physiology**, (Hoar, W. S., Randall, D.J., & Donaldson, E. M. Eds). Vol. IX A, 223-276. Academic Press, New York.
- Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads. In **Fish Physiology**. (Hoar, S. & Randall, J., editores). Vol. IX Part A, cap.6, pág. 223-265. Academic Press.
- Oduleye, S. O. (1982). Growth and Growth Regulation in the Cichlids. **Aquaculture**. 27: 301-306.
- Okuzawa, K., K. Furukawa, K. Aida & I. Hanyu. (1989). Effects of photoperiod and temperature on gonadal maturation, and plasma steoid and gonadotropin levels in a cyprinid fish, the Honmoroko *Gnathopogon caerulescens*. **Gen. Comp. Endocrinol**. 75: 139-147.
- Peng, C., V.L. Trudeau, and R.E. Peter, (1993). Seasonal variation of neuropeptide Y actions on growth hormone and gonadotropin-II secretion in the goldfish: effects of sex steroids. *Journal of Neuroendocrinology*. 52: 28-34.
- Peter, R.E., & L. W. Crim. (1979). Reproductive endocrinology of fishes: Gonadal cycles and gonadotropin in teleosts. **Ann. Rev. Physiol**. 41, 323-335.
- Peter, R. E. (1981). Gonadotropin secretion during reproductive cycles in teleodts: Influences of environmental factors. **Gen. Comp. Endocrinol**. 45: 294-305.
- Peter, R. E. (1983).The brain and neuhormones in teleost reproduction. In **Fish Physiology** (W.J. Hoar, D.J. Randall & E. M. Donaldson. Eds.) Vol. IX, part A. 97-135. Academic Press. New York. NY.
- Peter, R. E., J. P. Chang, C. S. Nahorniak, R. J. Omeljaniuk, M. Sokolowska, S. H. Shih & R. Billard. (1986). Interactions of catecholamines and GnRH in relation of gonadotropin secretion in teleost fish. **Rec. Prog. Horm. Res**. 42: 513-548.

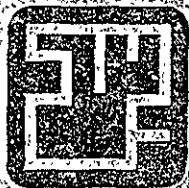
- Peter, R. E., V.L. Trudeau, B. D. Soley, C. Peng & C. S. Nahorniak. (1991). Actions of Catecholamines, Peptides and Sex Steroids in Regulation of Gonadotropin-II in the Goldfish. *In Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish.* (A. P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, and M. S. Rolfe. eds.) : 30-34. FishSymp 91.
- Powell, J. F.F., Y. Zohar, A. Elizur, C. Park, W. H. Fischer, A. G. Craig, J. E. Rivier, D. A. Lovejoy & N. M. Sherwood. (1994). Three forms of gonadotropin-releasing hormone characterized from the brain of one species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91: 12081-12085.
- Razani, H., Y. Hanyu, & K. Aida. (1987). Critical daylength and temperature level for photoperiodism in gonadal maturation of goldfish. *Exp. Biol.* 47: 89-94.
- Redding J. M. & R. Patiño. (1993). Reproductive Physiology. *In The Physiology of Fishes.* (Evans, D.H. ed.): 503-534. CRC Press, Inc.
- Rodríguez, M. G. (1992). *Técnicas de Evaluación Cuantitativa de la Madurez Gonádica en Peces.* AGT Editor. México. pp. 79.
- Saligaut, C., G. Salbert, T. Bailhache, S. Bennani & P. Jego. (1992). Serotonin and Dopamine Turnover in the Female Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Brain and Pituitary: Changes during the Annual Reproductive Cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 85: 261-268.
- SEPESCA (1986). *Piscicultura de Agua Dulce.* Manual Recetario. Secretaría de Pesca. México, D.F., 460 pp.
- SEPESCA-UAM (1994). Desarrollo Científico y Tecnológico del Banco de Genoma de tilapia. Convenio SEPESCA-UAM-I. *Secretaría de Pesca.* México. pp.89.
- Shivers, B.D., R. E. Harland & D. W. Pfaff. (1983). Reproduction: The central nervous system role of luteinizing hormone releasing hormone. *In Brain Peptides.* (Krieger, D.T. M.J. Brownstein, & J.B. Martín, Eds). John Wiley & Sons. New York. Cap 17: 389-412.
- Somoza, G. M., K. L. Yu & R. E. Peter (1988). Serotonin stimulates gonadotropin release in female and male goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 72, 373-382.
- Somoza, G. M. & R. E. Peter. (1991). Effects of Serotonin on Gonadotropin and Growth Hormone Release from *in Vitro* Perfused Goldfish Pituitary Fragments. *Gen. Comp. Endocrinol.* 82: 103-110.
- Sugimoto, Y., & H. Takahashi (1979). Ultrastructural changes of testicular interstitial cells of silver japanese eels *Anguilla japonica*, treated with human chorionic gonadotropin. *In Fish Physiology,* (Hoar, W. S., Randall, D.J., and Donaldson, E. M. Eds). Vol. IX A, 277-372. Academic Press, New York.

- Susuki, K., H. Kawauchi & Y. Nagahama. (1988). Isolation and characterization of two distinct gonadotropins from chum salmon pituitary glands. **Gen. Comp. Endocrinol.** 71: 292-301
- Trudeau, V. L., B. D. Sioley & R. E. Peter. (1993). Norepinephrine turnover in the goldfish brain is modulated by sex steroids and GABA. **Brain Research.** 624: 29-34.
- Wendelaar, B. S. E. (1993). Endocrinology. *In The Physiology of Fishes.* (Evans, D.H. ed.): 469-502. CRC Press, Inc.
- Wong, A. O., J. P. Chang and R. E. Peter. (1992). Dopamine stimulates growth hormone release from the pituitary of goldfish, *Carassius auratus*, through the Dopamine D1 receptors. **Endocrinology.** 130: 1201-1210.
- Yu, K. L. & R. E. Peter. (1991). Adrenergic and dopaminergic regulation of brain gonadotropin-releasing hormone release from goldfish preoptic-anterior hypothalamus and pituitary *in vitro*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 85: 138-146.
- Yu, K. L., P. M. Rosenblum, and R. E. Peter. (1991). *In vitro* release of gonadotropin-releasing hormone from the brain, preoptical-anterior hypothalamic region and pituitary of female goldfish. **Gen. Comp. Endocrinol.** 81: 256-267.
- Yu, K. L. & R. E. Peter (1992). Adrenergic and dopaminergic regulation of brain gonadotropin-releasing hormone release from goldfish preoptic-anterior hypothalamus and pituitary *in vitro*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 85: 138-146.
- Zohar, Y., A. Elizur, N. M. Sherwood, J. F. F. Powell, J. E. Rivier & N. Zmora. (1995). Gonadotropin-Releasing Activities of the Three Native Forms of Gonadotropin-Releasing Hormone Present in the Brain of Gilthead Seabream, *Sparus aurata*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 97: 289-299.

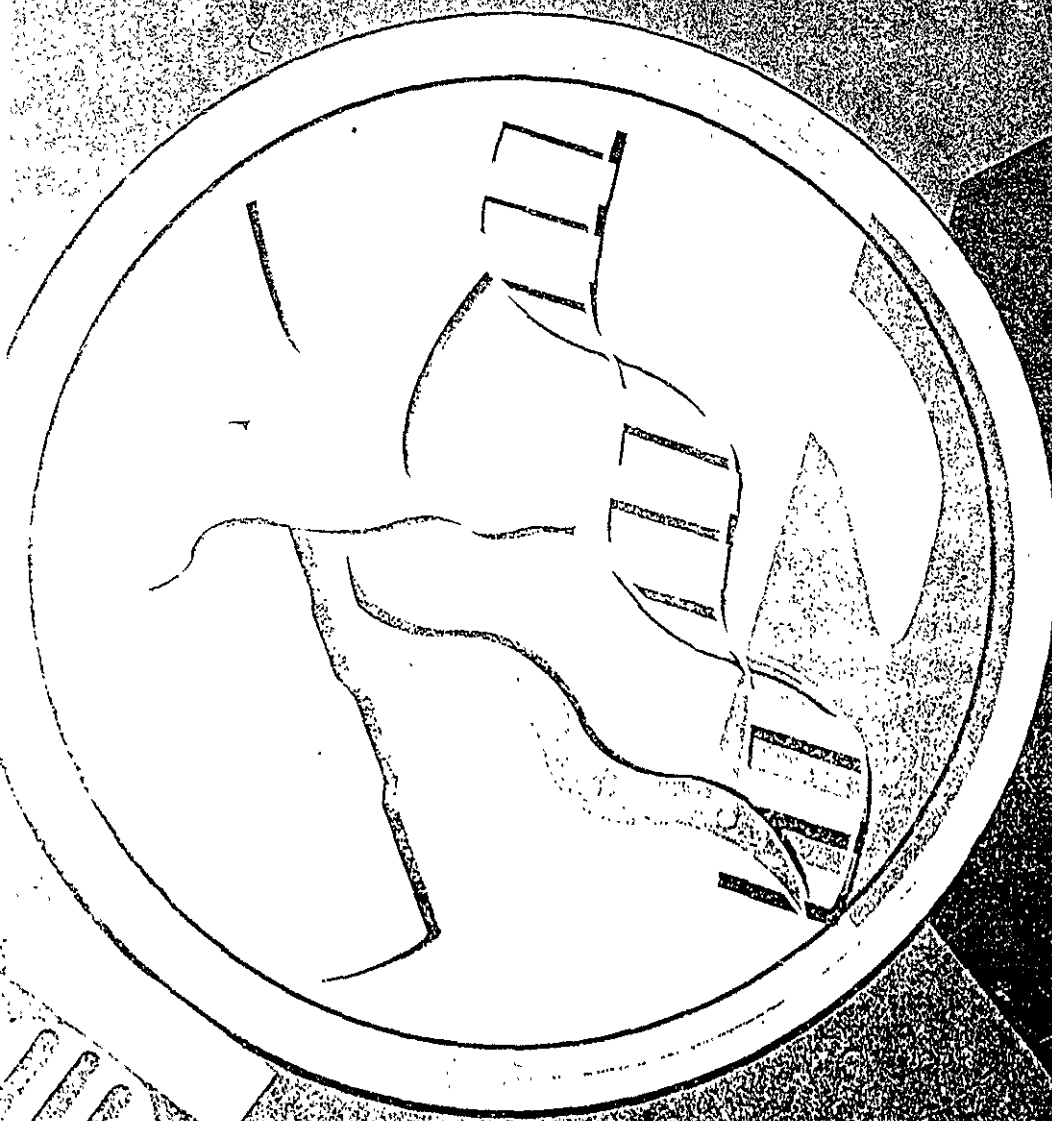
ANEXO I

**ESCALA EMPIRICA DE MADURACION GONADICA
PROPUESTA POR HOLDEN Y RAITT (1975).**

FASE	ESTADIO	DESCRIPCION
I	INMADURO	Ovarios y testículos cerca de un tercio de la longitud de la cavidad abdominal, ovarios rosaceos, translúcidos; testículos blancuzcos. Huevos invisibles a simple vista.
II	DESARROLLO	Ovarios y testículos cerca de la mitad de la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios rosaceos, translúcidos; testículos blancuzcos, mas o menos simétricos. Huevos visibles a simple vista.
III	MADURACION	Ovarios y testículos cerca de dos tercios de la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios de color rosaceo amarillo con aspecto granular. Testículos blancuzcos a crema. No hay huevos transparentes o translúcidos visibles.
IV	REPRODUCTIVA	Ovarios y testículos ocupan dos tercios a toda la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios de color naranja rosáceo con vasos sanguíneos superficiales visibles. Grandes huevos maduros, transparentes. Testículos blancuzcos crema, blandos.
V	POSDESOVE	Ovarios y testículos contraídos a cerca de la mitad de la longitud de la cavidad abdominal. Paredes flojas. Los ovarios pueden contener restos de los huevos opacos maduros, en desintegración, obscurecidos o translúcidos. Testículos sanguinolentos o flácidos.



Sociedad Mexicana de
Ciencias Fisiológicas



UNIVERSIDAD AMERICANA
DE ACAPULCO
EXCELENCIA PARA EL DESARROLLO

Acapulco, Gro. 1993
Agosto 15-20

XXXXVI Congreso Nacional

EFFECTO DE DIFERENTES DENSIDADES Y FOTOPERIODOS SOBRE LA MADURACION SEXUAL Y CRECIMIENTO DE LA TILAPIA (*O. niloticus*). PEÑA, B* Y DOMINGUEZ, R. UNIDAD DE INVESTIGACION EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION. F.E.S. ZARAGOZA. UNAM.

Poco se conoce sobre si la densidad y el fotoperiodo afectan el crecimiento y la maduración sexual de la Tilapia (*O. niloticus*). Para analizar si éstos parámetros son modificados en función del número de peces que cohabitan y el tipo de iluminación al que son sometidos, tilapias de 30 días de edad con una talla de 3 ± 0.5 cm y 0.5 ± 0.2 g fueron mantenidas en acuarios de vidrio de 40 litros de capacidad, a temperatura de 26 ± 1 °C y bombeo continuo. Los animales fueron mantenidos en grupos de 4, 6 u 8 por pecera, a los que se les suministró alimento para peces de ornato (tetraperez, con 2% de proteína), a razón de 6% de la biomasa total en tres raciones al día. En otro experimento, peceras con 8 tilapias cada una fueron colocadas en condiciones de 12/12 horas luz-oscuridad, 24 horas luz o 24 horas oscuridad. No se observaron diferencias en el crecimiento y la maduración sexual entre los animales mantenidos en las tres densidades estudiadas. En los animales mantenidos en diferentes fotoperiodos el índice Gonadosomático alcanzado por las hembras fue mayor que el de los machos (tabla). Estos resultados permiten sugerir que en la Tilapia el desarrollo y crecimiento de las gónadas es influido por el fotoperiodo de una manera dependiente del sexo.

Fotop.	Número J	Sexo F	Sexo	Dens.	Lp (cm)	Peso (g)	GSI
12/12	24	18	M	8	8.9 ± 0.3	21.7 ± 2.3	$0.4 \pm 0.09^*$
			H		8.6 ± 0.6	18.2 ± 3.2	$2.1 \pm 0.5^*$
24 L	24	18	M	8	9.1 ± 0.5	22.3 ± 2.8	0.7 ± 0.4
			H		8.3 ± 0.4	17.5 ± 1.9	1.1 ± 0.3
24 0	24	21	M	8	8.7 ± 0.2	21.4 ± 1.8	$0.6 \pm 0.1^*$
			H		7.6 ± 0.1	13.9 ± 1.2	$3.9 \pm 0.7^*$

Los valores son promedios \pm error estándar. I=Inicial, F=Final, Lp=Longitud patrón, GSI=Índice Gonadosomático.

*significativamente diferentes con $p < 0.5$.

Apoyado por CONACYT

ESTUDIO DEL EFECTO QUE PROVOCA LA APLICACION DE LUZ ROJA, SOBRE EL RITMO CIRCADICO LOCOMOTOR EN EL ACOCIL. Merlín-Pérez A.* e Inclán-Rubio V. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina UNAM.

En el acocil *Procambarus*, se ha descrito un ritmo de actividad locomotora con características circádicas. En condiciones de oscuridad constante, este ritmo tiene una duración promedio de 23.4 h, mientras que en iluminación continua el valor del período aumenta. En las dos situaciones descritas anteriormente el ritmo es bimodal, presentado una acrofase alrededor de las 24:00 h y otra de menor amplitud a las 12:00, aproximadamente. Este ritmo puede sincronizarse mediante la aplicación de fotoperiodos de luz blanca y oscuridad y cambiar el valor de fase, cuando recibe estímulos únicos a diferentes horas circádicas. Por otra parte, se ha observado en algunos mamíferos que el inicio de la actividad circádica locomotora se puede adelantar o atrasar, dependiendo del contenido espectral del fotoperiodo. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto que provoca la aplicación de luz roja sobre el ritmo locomotor en el acocil. Se trabajó con acociles *Procambarus*, adultos, en etapa de intermuda. La actividad locomotora se registro en forma individual utilizando un transductor fisiográfico, el cual recogía la actividad de los dos pereopodos centrales izquierdos de cada acocil. Se aplicaron fotoperiodos (L:O 11:13; de las 7:00 a las 18:00 h) con luz blanca y con luz roja (632 nm) de la misma intensidad, cuando menos durante 7 días para cada regimen luminoso. Los resultados muestran una disminución en la amplitud de la actividad locomotora cuando el fotoperiodo incluye luz roja. Esta disminución es mayor que la producida por la luz blanca, y parece depender, por una parte, de la longitud de onda, y por otra, de la condición de iluminación previa a la aplicación de la luz roja; es probable que este efecto inhibitorio de la luz roja involucre a un sistema neuroendocrino diferente al que se ha descrito para explicar el efecto que provoca la luz blanca sobre la actividad motora en el acocil.

MODIFICACIONES A LA POBLACION FOLICULAR DEL OVARIO DE RATAS PRE-PUBERTES TRATADAS CON DIFERENTES DOSIS DE PMSG. Morán, C., Villavicencio, J., Chávez, R. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción. FES Zaragoza, UNAM, México, D.F.

En reportes previos hemos mostrado que la respuesta ovulatoria a la administración de la gonadotropina del suero de yegua preñada (PMSG), depende de la dosis de la hormona utilizada y de la edad del animal en estudio (1). Para observar si los efectos observados se correlacionan con cambios en la proporción de folículos sanos o atresícos, ratas de la cepa C12-V de 27 días de edad fueron inyectadas s.c. con solución salina (Vh) o PMSG (3 u 8 u.i.). Los animales fueron sacrificados por decapitación a las 24, 48 o 72 h después del tratamiento. A la autopsia se contó el número de ovocitos en las trompas ováricas y se pesaron los ovarios. El ovario derecho de tres animales por grupo experimental fue fijado en solución de bouin, teñido con H-E y cortado en forma seriada. Para el análisis de la población folicular se utilizó el método habitual del laboratorio.

Ninguno de los animales con administración de PMSG o Vh y sacrificados 24 o 48 h después ovuló. En los sacrificados 72 h después el número de ovocitos aumentó en función de la dosis de PMSG utilizada (8 ± 1 vs 34 ± 5 $p < 0.01$). El peso de los ovarios en los tratados con PMSG fue mayor que en los de Vh. Los resultados de la distribución de la población folicular por rango, así como el porcentaje de los folículos atresícos se muestran en la siguiente tabla.

GRUPO	Media \pm ecm del número de folículos por rango (μ m)			Porcentaje de atresia por rango (μ m)		
	150-199	200-349	>350	150-199	200-349	>350
24 Vh	48 ± 28	52 ± 12	38 ± 3	71	62	61
24 PMSG 3 u.i.	35 ± 14	52 ± 11	19 ± 6	34*	52	79*
24 PMSG 8 u.i.	17 ± 3	17 ± 2	20 ± 6	35*	65	80*

48 Vh	27 ± 2	44 ± 7	17 ± 2	48	32	59
48 PMSG 3 u.i.	18 ± 7	33 ± 10	13 ± 14	50	33	36*
48 PMSG 8 u.i.	11 ± 3	30 ± 2	28 ± 2	45	77*	33*

* $p < 0.05$ (prueba de chi cuadrada)

Nuestros resultados muestran que a la dosis de PMSG utilizada, aumenta el número de folículos con diámetro 350μ m, y que el efecto de esta gonadotropina no se correlaciona con la proporción de los folículos atresícos en este rango.

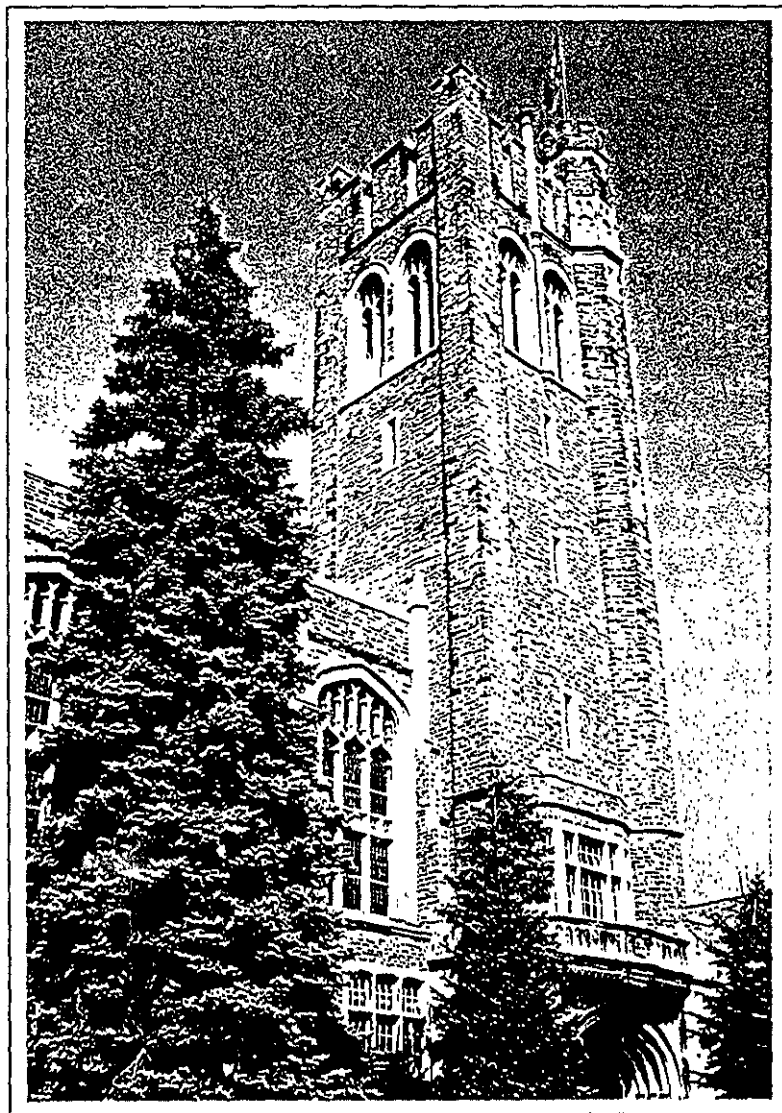
(1) Villavicencio, J. y col (1993) *Med. Sci. Res.* 21: 69-71 Trabajo apoyado por CONACYT y FUIS

EFFECTO INHIBITORIO SOBRE LA ACTIVIDAD MOTORA DEL CLORHIDRATO DE DEDAMINE EN RATON. Rubio-Póo C., Lemini C.* Mandoki J. J., Mendoza-Patiño N., y Zarco de C. I. F.E.S. Zaragoza, Departamento de Farmacología y Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina UNAM, Mexico, D.F. C.P. 04510.

En nuestro grupo hemos sintetizado el anticoagulante dedamine [17 β -(N,N, dietileileno-diamino)-1,3,5(10)-estratrieno-3-ol], su clorhidrato tiene un efecto anticoagulante escaso, pero en cambio, produce una depresión de la actividad locomotora en la rata y el ratón. El propósito de este trabajo consistió en dilucidar si el mecanismo de acción de la hipomotilidad producida por este fármaco implica: 1) una acción quelante de Ca^{++} lo que impediría el acoplamiento de la excitación-contracción muscular; y 2) si este efecto es común en otros diaminoesteroides o es específico para los diaminoestrógenos. Los experimentos se llevaron a cabo en ratón macho CD1, se utilizaron 4 grupos de animales de 30 ± 1.3 g de peso, ($n=5$) distribuidos de forma balanceada en estratos. A todos los grupos se les valoró la actividad motora antes y 5 minutos después del tratamiento, introduciéndolos en un cilindro giratorio, determinando el número de vueltas que recorrían durante 5 minutos. Los tratamientos de los grupos fueron: 1) solución salina (1 mL/100 g), 2) clorhidrato de dedamine (1 mg/100 g), 3) clorhidrato de dedamin-andrógeno (1mg/100 g) y 4) EDTA (2 mg/100 g), por vía i.p.. Los experimentos fueron evaluados en forma ciega y simultáneamente en todos los grupos. Los animales tratados con solución salina y el clorhidrato de dedamin-andrógeno no tuvieron diferencias significativas en su actividad motora posterior al tratamiento. El EDTA produjo una disminución de la actividad motora del 26 % ($P < 0.05$). Los animales tratados con el clorhidrato de dedamine disminuyeron en un 50 % ($P < 0.05$) la actividad motora del ratón. Estos resultados indican que el efecto depresor de la actividad motora del clorhidrato de dedamin no puede atribuirse exclusivamente a las propiedades quelantes del fármaco, sino también a una acción específica sobre el sistema nervioso central que involucra a su estructura estrogénica

SOCIETY FOR THE STUDY OF REPRODUCTION

Biology of Reproduction/Volume 54/Supplement 1



University College



SSR

JULY 27-30, 1996—29TH ANNUAL MEETING
THE UNIVERSITY OF WESTERN ONTARIO
LONDON, ONTARIO, CANADA

305 PROGESTERONE METABOLITES IN THE FECES OF FREE RANGING FEMALE SOUTHERN AFRICAN BLACK RHINOCEROSSES (*Diceros bicornis minor*) ML Patton,¹ N Czekala,^{1*} VA Lance,¹ and LR Hagcy^{2*}. Center for Reproduction of Endangered Species, Zoological Society of San Diego, San Diego, California¹, and Dept. of Medicine, University of California, San Diego, California.²

There are significant differences in the rate of reproduction between captive and wild black rhinoceroses. Captive rhinoceroses have a very low rate of reproduction. These differences are reflected in the fecal progestin patterns when assayed by radioimmunoassay (RIA). In general, values from wild animals are markedly higher than those of captive animals. The purpose of this study was to quantify and identify the specific progestin(s) responsible for these differences. Fecal samples were collected from free ranging black rhinoceroses in Zimbabwe (n=10) and from animals housed at the San Diego Zoo (n = 5). Samples from a wild rhinoceros and a captive pregnant rhinoceros were lyophilized and extracted with diethyl ether and then analyzed by High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). Steroids in the HPLC fractions were monitored using 2 antibodies (produced against 4-pregnen-3,20-dione 11 - hemisuccinate BSA). Both antibodies detected a single broad peak in the samples from the wild and captive animals. Following multiple HPLC runs, methyl ester acetate derivatives were made of the pooled HPLC progestin fractions and subsequently analyzed by Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS). The following steroids were unambiguously identified in this peak (listed in descending order of abundance): 5 α -pregnane-3 β -ol-20-one, 5 β -pregnane-3 α -ol-20-one, 5 α -pregnane-3 β ,20 α -diol, 5 β -pregnane-3,20-dione, 5 α -pregnane-3 α ,20 α -diol, 5 β -pregnane-3 α , 20 α -diol, and 5 β -pregnane-3 β -ol-20-one. Although the immunoactivity was considerably lower in non pregnant captive rhinoceroses the fecal steroid metabolites in pregnant captive and wild rhinoceroses were similar. The progesterone metabolites in feces isolated from these black rhinoceroses consist principally of a mixture of 5 α - and 5 β - reduced pregnanes.

307 SEX DIFFERENCES ON THE CATECHOLAMINE CONCENTRATION IN THE HYPOTHALAMUS OF TILAPIA *Oreochromis niloticus*. Peña, B.* UIBR FES Zaragoza UNAM AP 9-020. CP 15000 México DF

In the mammalian hypothalamus, the catecholamines, norepinephrine (NE), dopamine (DA) and serotonin (5-HT), play a significantly role in the regulation of gonadotropin secretion and gonadal development. There is evidence that in fishes NE, DA and 5-HT participate in the regulation of blood circulation, respiration and energy balance. To our knowledge, there is no information on its role on the regulation of gonadotropin secretion and gonadal development. Present study was designed to analyze the effects of three photoperiods: 12/12 L/D (lights on from 8:00-20:00); 24 hours light and 24 hours dark, during three months on gonadal development. The fishes were sacrificed by decapitation and the ovaries and testis were removed and weighed; the hypothalamus dissected and processed for catecholamine measure by HPLC.

The table shows the results obtained:

PHOTO PERIOD	STANDARD LENGTH (cm)	BODY WEIGHT (g)	GONADS WEIGHT (mg)	NE (ng/mg tissue)	DA (ng/mg tissue)	5-HT (ng/mg tissue)
MALES						
12/12	7.48±0.28	14.62±1.50	63±12	2.22±0.31	1.10±0.33	4.05±1.06
24/0	7.20±0.37	13.45±1.96	107±20	2.94±0.50	1.70±0.75	3.63±0.82
0/24	7.13±0.27	13.23±1.40	89±12	3.02±0.48	0.80±0.24	2.84±0.56
FEMALES						
12/12	6.40±0.46	9.11±2.15*	140±86	3.73±0.93	0.80±0.33	3.12±0.70
24/0	7.54±0.08	14.79±3.28	408±128*	3.25±0.90	0.36±0.14*	2.68±0.71
0/24	6.78±0.37	10.71±1.03	369±111*	4.54±0.85	0.53±0.18	2.90±0.87

* P < 0.05 vs. 12/12 group.

The results suggest that there are sex differences on the effects of both, permanent light or dark, on gonadal development, which partially correlates with changes in DA concentration at the hypothalamus.

Supported by PADEP 500302.

306 A High-Growth Line of Mice Carrying a Major Growth Locus as a Model to Study Impaired Reproductive Performance in Livestock SL Cargill, GB Anderson, and JF Medrano* Dept. of Animal Science, University of California, Davis

The antagonism between selection for increased growth rate and reproductive performance in domestic species is well known. To study this antagonism, a model line of mice (HG) carrying the high growth locus (hg) that increases weight gain and mature body size by 30-50% and exhibits impaired reproductive performance has been used. The impaired reproductive performance is characterized by an increased interval between pairing the male and female and when the female is found with a mating plug, a decrease in the number of offspring produced, and a decrease in the reproductive lifespan of the population. Experiments to study reproductive performance were performed on the HG and C57BL/6J control mice. The HG mice are a congenic line that is 99.9% C57BL/6J with the high growth locus. A significantly higher percentage of the HG female population (8.2%) were found to recycle (remated 4-6 days after a previous mating plug was observed) compared with the control female population (1.7%). No significant difference in the percentage of HG (9.9%) and control (8.4%) females that became pseudopregnant (remated 10-12 days after a previous mating plug was observed) after mating to a fertile male was observed. Recycling indicates that the female did not establish functional corpora lutea, and therefore could not maintain the pregnancy due to the absence of progesterone. In addition, a larger percentage of the female HG population (45%) compared with the female control population (33%) had an interval between pairing of a male and female and first mating plug that was greater than 4 days. A significantly larger percentage of the female HG population (63%) had a longer interval between pairing of a male and female and the establishment of pregnancy compared with the female control population (41%). These data indicate that the HG mice have abnormalities in their reproductive cycle and pregnancy that provide the framework for additional studies into the mechanisms of impaired reproductive performance of animals with increased body growth. Of particular interest is failure to form functional corpora lutea after mating.

308 STUDY OF MITOCHONDRIAL DNA SEGREGATION IN AN HETEROPLASMIC MOUSE MODEL PRODUCED BY EMBRYONIC KARYOPLAST TRANSFER. F.V. Meirelles* and L.C. Smith. Centre de recherche en reproduction animale, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, (Quebec) Canada J2S 7C6.

Limited information is available on the mechanisms controlling mitochondrial DNA (mtDNA) segregation, replication and transmission in mammals. Our objective was to clarify these events and thereby test current contradictory theories in an animal model. An heteroplasmic female was produced by karyoplast transfer from a zygote carrying a C57/BL6 (C57) mtDNA pattern to a New Zealand Black (NZB) mtDNA pattern cytoplasm recipient. It is estimated that mitochondria transferred with a karyoplast represents 10% of the total mitochondrial content in the reconstituted zygote. The adult female derived from the reconstructed embryo and its female progeny were bred to C57 males for three generations. MtDNA of several organs and tissues from the heteroplasmic founder and its descendants was extracted, amplified by PCR and digested with *Bam*HI to determine the mtDNA content of each strain. Ratios between C57 and NZB mtDNA were obtained by densitometry and artifactual heteroduplexes were eliminated by double digestion (*Bam*HI and *Hin*III). Results in the founder female showed a high degree of heterogeneity between tissues/organ (36 to 94% NZB), suggesting that a significant component of mtDNA segregation occurs during development after fertilization. First generation progeny were also highly heterogeneous (23 to 100% NZB) between animals and tissue/organ mtDNA content. However, although variable among animals, heteroplasmic progeny from the second generation had an homogeneous tissue/organ mtDNA distribution. We believe that this effect may be due to "persistent" heteroplasmy as described in human mtDNA point mutation causing degenerative disease. Moreover, homoplasmic NZB individuals arose from the heteroplasmic mothers in all generations, suggesting rapid segregation of mtDNA in some individuals in this model. (Supported by MRC of Canada).

THE EFFECTS OF DIFFERENT PHOTOPERIODS ON BODY GROWTH, GONADAL GROWTH AND HYPOTHALAMIC MONOAMINE CONTENT IN JUVENILE *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757).

EFFECTS OF DIFFERENTIAL PHOTOPERIODS IN *Oreochromis niloticus*

Bertha Peña and Roberto Domínguez.

Biology of Reproduction Research Unit. FES Zaragoza UNAM.

AP 9-020, CP 15000, Mexico DF. Mexico

Reprint request: Bertha Peña: Biology of Reproduction Research Unit. FES Zaragoza UNAM.

AP 9-020, CP 15000, Mexico DF. Mexico

Supported by PADEP grants 500304 and 500302 and partially by DGAPA IN 210893 AND PUIS-UNAM.

ABSTRACT

The effects of different photoperiods (12/12; 24/0 and 0/24 Light/Dark) on body growth, gonadal development and monoamine concentration in the hypothalamus of male and female tilapia, *Oreochromis niloticus*, were studied. Standard body length and total weight were similar in male and female maintained under different photoperiods. The gonadosomatic index (GSI) was higher in female maintained under 0/24 conditions than in 12/12. The concentration of norepinephrine (NE) in the hypothalamus of males kept at 0/24, was higher than the male kept under 12/12 and 24/0. The content of dopamine (DA) in the hypothalamus of males at 24/0 was higher than in all other treated animals. The concentration of serotonin (5-HT) in the hypothalamus of male and female *Oreochromis niloticus* showed no statistical differences. The highest DA/NE relationship was observed in males maintained under 24/0 light/dark condition. The 5-HIAA/5-HT ratio in males kept under 24/0 light/dark condition was significantly lower than those maintained at 12/12 and 0/24. The present results suggest that there are sex differences in the neuroendocrine mechanisms regulating gonadal growth in *Oreochromis niloticus*, as well as in the participation of the light/dark conditions.

Key words: photoperiod, gonadal development, catecholamines, *Oreochromis niloticus*.

RESUMEN

Se estudio el efecto de tres condiciones de fotoperiodo (12/12; 24/0 y 0/24 l/o) sobre el crecimiento en longitud patrón, peso total, desarrollo gonadal y concentración de monoaminas en el hipotálamo de *Oreochromis niloticus*. Los resultados muestran que no existe diferencia en el crecimiento de la tilapia cuando se somete a diferentes fotoperiodos. Sin embargo, el índice gonadosomático de las hembras expuestas a condiciones de obscuridad continua fue mayor que para aquellas que se encontraban en fotoperiodo de 12/12. La concentración de NE en el hipotálamo de los machos sometidos a obscuridad continua son mayores que para el resto de los peces en otros fotoperiodos. La concentración de DA y la relación DA/NE alcanzó su máximo valor en las tilapias expuestas a condiciones de luz continua. La concentración de 5-HT en el hipotálamo de hembras y machos de *O. niloticus*, no presentó diferencias significativas. La relación 5-HIAA/5-HT en los machos mantenidos bajo condiciones 24/0 l/o fué significativamente menor que la de los animales expuestos a 12/12 y 0/24. Finalmente, los resultados apoyan que existe diferencia sexual y por exposición a los diferentes fotoperiodos en el mecanismo neuroendócrino que regula la maduración sexual de la tilapia.

Palabras clave: Fotoperiodo, desarrollo gonadal, catecolaminas, *Oreochromis niloticus*.

INTRODUCTION

The Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, is the most important species on account of its fast growth rate, adaptability to a wide range of culture conditions and high consumer acceptability. Many of the problems associated with tilapia farming stem from the exceptional mode of reproduction. In addition to being mouth-brooders, these fish mature precociously under certain conditions and energy is derived from growth into reproduction. The reproductive cycles of females within a breeding group are not synchronized, even though each fish may breed up to 12 times in a year (Macintosh and Little, 1995) (Anonymous, 1994).

There is evidence that the monoaminergic system in fishes as in mammals plays a role in the regulation of gonadotropin secretion and gonadal development. Norepinephrine (NE) has been consistently shown to stimulate luteinizing hormone (LH) secretion. Serotonin (5-HT) and dopamine (DA) may play a stimulatory or inhibitory role in the regulation of LH secretion, depending on the steroid environment, while all evidence indicates that γ -amino-butyric acid (GABA) plays an inhibitory role (Peter *et al.*, 1991, Kordon *et al.*, 1994).

In teleosts, NE, DA and 5-HT are the most important neurotransmitters regulating gonadotropin secretion (Guerrero *et al.*, 1990; Trudeau *et al.*, 1993a; Senthilkumaran and Joy, 1995). Respect to GtH-I, had been observed that is structurally and functionally comparable to mammalian follicle-stimulating hormone and is the predominant GtH found in the pituitary and blood of fishes whose gonads are undergoing active growth and gametogenesis. In contrast, GtH-II appears similar to luteinizing hormone, predominating during time of final gonadal maturation and spawning.

Studies on the control of gonadotropin secretion in teleosts have shown that GtH-II release is regulated by monoamines in both a stimulatory as well as an inhibitory way (Chang and Peter, 1984; Peter *et al.*, 1986; Somoza and Peter, 1991). NE and 5-HT stimulates GtH-II release, while DA has been shown inhibitory effects. According to Peter *et al.*, (1991), DA has inhibitory effects on gonadotropin secretion by acting directly on gonadotrophs, as well as on gonadotropin-releasing hormone (GnRH) release in the goldfish.

In adult female tilapia hybrids (*Tilapia nilotica* X *Tilapia aurea*) (= *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*) the blockade of dopamine-receptors by pimozide administration did not affect the spontaneous release of immunoreactive tilapia gonadotropin. The same effect was observed by dopamine depletion induced by reserpine administration. When the dopamine-receptor blockade was followed by the administration of GnRH analogue, the response of the pituitary was considerably augmented and prolonged. Based in their results, the authors conclude that "The fact that reserpine or pimozide can augment the response to the GnRH is consistent with the hypothesis that a certain catecholamine (probably dopamine) is involved in a gonadotropin-release inhibiting activity in this fish" (Gissis *et al.*, 1988).

Somoza and Peter (1991) demonstrated that 5-HT has a stimulatory effect on gonadotropin secretion and inhibits growth hormone (GH) secretion from goldfish pituitary fragments *in vitro*.

GABA has a stimulatory effect on the secretion of gonadotropin in goldfish (Kah *et al.*, 1991). Such action is not exerted at the level of the gonadotrophs apparently, but may be mediated by direct or indirect GABA influences on GnRH secretion.

Neuropeptides have also been included into the mechanism regulating gonadotropin secretion in teleosts. Neuropeptide Y (NPY) stimulate GtH-II release from dispersed goldfish pituitary cells in static culture, indicating a direct action on gonadotrophs (Peter *et al.*, 1991).

Photoperiod plays a role in the modulation of the mechanisms regulating gonadal functions in several vertebrates (Hoar, 1969; Peter, 1981). Studies on the influence of the light/dark period on fish growth have frequently resulted in variable, complex and confusing data. This could be

explained by the multiple ways by which light acts, and by its interaction with other environmental factors, particularly temperature (Okuzawa *et al.*, 1989).

In the minnow, *Phoxinus phoxinus*, maintained under controlled laboratory conditions, a rapid increase in the photoperiod from 8 to 16 h resulted in a greater stimulation of vitellogenesis than when the photoperiod was gradually increased (Scott, 1979). In the rainbow trout, *Salmo gairdneri* (= *Oncorhynchus mykiss*), a decreasing photoperiod is more effective in stimulating gametogenesis than a constant short photoperiod (Billard *et al.*, 1981), while Skarphedinsson *et al.*, (1982) described that long photoperiods stimulate gonadal development.

To our knowledge, there is little information on the interaction of the monoaminergic systems and photoperiod in the regulation of gonadal recrudescence in fish. The purpose of present study was to analyze the effects of different photoperiods on growth, gonadal recrudescence, monoaminergic concentration and their turnover rate in the hypothalamus of *Oreochromis niloticus*.

MATERIALS AND METHODS

The fish *Oreochromis niloticus* L. were obtained from "El Rodeo", a fish farm in the state of Morelos, México (latitude 18°45' N, longitude 99°20' W, at an altitude of 1100 m).

The fry (length 1.3 cm and 0.4 g body weight), were transported to the laboratory in polyethylene bags with aeration. The fish were acclimated in 30 liters aquariums (8 animals by aquarium) with aeration, at 25°C on a natural photoperiod for 1 week after they arrived in the laboratory. Fish were fed daily to satiation with trout pellets (50% protein). The experiments were conducted during the months October, November and December.

When the animals were 30 days old, and had a standard length of 1.5 cm and 0.5 g body weight, they were randomly assigned to one of the experimental conditions. Because at this age external differences between males and females are not observed, a gender classification of the animals was not intended. The fish were maintained for three months in:

- A. 12 h light/12 h dark condition (lights on from 08:00 to 20:00 h) (control group).
- B. 24 h light condition, and
- C. 24 h dark condition.

Photoperiod was set with a 40W daylight fluorescent lamp connected to an electric timer; water temperatures were maintained to the nearest 1.0°C by either a thermostatically regulated heater. Circulating filtered water was used in all aquarium.

Autopsy procedure. At the end of the experiment, the fish were measured for standard length (S.L.) to the nearest mm and weighed (gross weight) to the nearest g, and sacrificed by decapitation, between 10:00 and 13:00 h. The hypothalami were immediately removed, dissected and kept at -70°C until the content of catecholamines was measured by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The gonads were removed and weighed, and the gonadosomatic index (GSI = gonadal weight/body weight x 100) was calculated.

To know the GSI and catecholaminergic values at the beginning of the experiment, groups of 30-day old male and female tilapia of a standard length of 1.5 cm and 0.5 g body weight, were sacrificed and processed as experimental animals.

Monoamine determination. The hypothalamus of each animal was weighed and homogenized on ice in 300 µl of HPLC grade 0.1 M perchloric acid (Sigma, St. Louis, MO). After centrifugation at 12,000 rpm, at -4 °C for 30 min, the supernatant was filtered through a 0.22-µm pore diameter filter (Millipore, S. A.) and aliquots (30 µl) were directly injected into the HPLC system. The HPLC system used was a L-250 solvent delivery pump (Perkin Elmer Co, Norwalk, CT, USA) a six-port injection valve (7125 model, Rheodyne, Cotati, CA, USA) with a 20 µl loop. Separation of catecholamines was achieved using Pecocil C18 10-µm cartridges (18 cm x 5 mm i.d.) from Perkin Elmer. The detection system consisted of an amperometric detector Model LC-4C (Bioanalytical systems Inc., West Lafayette, IN, USA)

with a dual glassy carbon working electrode and a integrator PE model 1020 (Perkin Elmer Co., Norwalk, CT, USA). The operation potential was set at +0.85 V against the Ag/AgCl₂ reference electrode, and the detector sensibility was 10 nA. Mobile phase was prepared according to Domínguez *et al.*, (1998). The flow rate was set at 1.2 ml/min. The standards for norepinephrine ((-)-Arterenol free base), 4-Hydroxy-3-MetoxyphenylGlycol (MHPG), 3-Hydroxy Tiramine hidroxyindole (DA), 3,4-Dihydroxy-phenyl acetic Acid (DOPAC), serotonin and 5-hydroxyindole -3-acetic acid (5-HIAA), were obtained from Sigma (St. Louis, MO). The stock solutions were prepared in 0.1N-perchloric acid, and the working solutions were prepared fresh every day. Assay sensitivity for each compound was 100 pg. The concentrations of the biogenic amines were expressed as ng/mg fresh tissue weight. The equipment was calibrated by the external standard method, using the chromatogram peak's area resulting from the three calibration points (2.0, 1.0 and 0.5 ng), the results were fitted by ordinary least squares regression and the values of coefficient of determination obtained were at least 0.95 for each substance. The values of the biologic samples were within the range of calibration. The 5-HIAA/5-HT ratio was taken into account as a expression of amine turnover, or as an expression of the activity of the serotonergic neurone suggested by Shannon *et al.*, (1986) and Kerdelhué *et al.*, (1989). The DA/NE ratio was used as an index of DA conversion to NE (Guerrero *et al.*, 1990). Sex differences in body weight and standard length, gonadal weight, monoaminergic concentration and turnover rate expressed as mean \pm SEM, were analyzed by Kruskal-Wallis test. A $p \leq 0.05$ was accepted as significative.

RESULTS

In 30 days old animals acclimated under natural conditions, the hypothalamic NE concentration in males was higher than in females. Significative differences in standard length, body weight, DA and 5-HT concentrations and GSI between males and females animals, were not observed (Table 1).

In control group (12/12 l/d conditions), the GSI increased twice in males and three times in females, in comparison with those animals killed at the beginning of the experiment. Such increment in gonadal index was accomplished without changes in monoamines concentrations in the hypothalamus of the males, while in the females a significant increase in NE and 5-HT hypothalamic concentrations, were observed (Tables 1 and 2).

No significative differences in body weight, standard body length and gonadal weight were observed between male and female tilapias kept in light/dark photoperiods. In comparison with control fish kept under 12/12 light/dark conditions, the GSI in fish kept under 0/24 or 24/0 l/d conditions was higher; significative differences were observed only in those animals maintained under 0/24 l/d conditions, (Table 2). The GSI was not affected by the photoperiod in males.

The concentration of NE in the hypothalamus of males kept at 0/24, was higher than in males under 12/12 and 24/0 conditions, while the concentration of DA was higher in animals kept at 24/0. Significative differences in 5-HT were not observed (Table 3). The levels of MHPG and DOPAC were below the sensitivity level of the method (50 pg).

Significative differences in NE, DA and 5-HT concentration in the hypothalamus of females tilapia, were not observed (Table 3).

The DA/NE relationship was always higher in male than in female animals, and the highest relationship was observed in males maintained under 24/0 light/dark regimen (table 3).

The 5-HIAA/5-HT ratio in males maintained in a 24/0 l/d conditions was significantly lower than males at 12/12 or 0/24 l/d (Fig. 1).

DISCUSSION

The differences in the GSI observed in males between the beginning and the end of the experiment was accomplished without changes in monoamines in the hypothalamus, while in the female the same response included a high increase in NE and 5-HT concentrations. Such sex differences could be explained by disparities in the neuroendocrine mechanisms regulating gonadotropin secretion. Such differences have been described in mammals, but to our knowledge there is not information in fishes (Kordon *et al.*, 1994).

In vertebrates, including fish, the temperature and photoperiod are the most important factors regulating reproductive activity. In most spring and summer spawners, increasing water temperature induces vitellogenesis and spawning, while shortening of day-length is important for maturation in autumn and winter spawners (Peter and Crim, 1979; Lam, 1983; Okuzawa *et al.*, 1989). Photothermal conditions have been reported to influence the contents and activity of monoamines and monoamine oxidase (MAO) activity in *C. punctatus* (Khan and Joy, 1988) and hypothalamic serotonin and monoamine oxidase (MAO) activity in *Carassius auratus* (Olcese and de Vlaming, 1980).

There is evidence that during the spawning period the tilapia's males built the nest in the bank of the lagoons, where there is more light available, while the females remain the depth. The sex differences in the increment of gonadal development observed in males and females maintained under external light/dark conditions, could be explained by the unknown changes that the animals present when they are in natural conditions.

In the present study, the concentration of catecholamines measured in the hypothalamus of *Oreochromis niloticus* were similar to those measured in *Cyprinus carpio* (Abo and Hanke, 1981), *Heteropneustes fossilis* (Senthilkumaran and Joy, 1993, 1995), *Oncorhynchus mykiss* (Saligaut *et al.*, 1992), *Pygocentrus notatus* (Guerrero *et al.*, 1990).

The present results differ from those reported by Guerrero *et al.*, (1990) in *Pygocentrus notatus*; Chang and Peter (1984), Trudeau *et al.*, (1993b) in *Carassius auratus*, and Senthilkumaran and Joy, (1993) in *Heteropneustes fossilis*, who described changes in catecholaminergic concentration in the hypothalamus related to gonadal development. Such differences could be explained on the basis of the disparity in reproductive periods between *Oreochromis niloticus*, a precocious reproducer, and *Carassius auratus*, *Pygocentrus notatus* and *Heteropneustes fossilis*, which have an annual reproductive cycle (Chang and Peter 1984; Guerrero, *et al.*, 1990; Trudeau *et al.*, 1993b and Senthilkumaran and Joy, 1993).

In male tilapia, significant changes in the GSI compared with the start group were not evident, however the concentration of NE and 5-HT in the hypothalamus increased significantly. This lack of response of the male gonad can not be explained by a lack of gonadotropin receptors in the testis, since human chorionic gonadotropin (hCG) administration (30 IU) induced a significant increase in the weight of the gonads (unpublished observation). It is possible, therefore, that at this age the male hypothalamic-pituitary complex is not able to increase GnRH secretion following the increase in NE and 5-HT concentration. Besides, when the males were maintained under conditions of continuous light the DA concentration was highest, however, their metabolite was not register, this results suggests that the dopaminergic neurons activity is lower and that DA/NE ratio is higher in 24/0 than in 12/12 and 0/24 conditions (table 3) on one hand, and the norepinephrine and serotonin concentration could be play a combined effect with dopamine. Other factors, possibly endogenous, may play a role during this period to influence gonadal growth. This results are supported by De Leeuw *et al.* (1985), in African catfish who suggested that a possible mechanism for sex steroid negative feedback on the brain-pituitary axis is that estrogens are converted to catecholestrogens, which then in turn compete with dopamine for catechol-O-methyl-transferase (COMT), leading to decreased dopamine degradation and increased inhibitory effects on GnRH secretion.

The effects of the photoperiods observed in present study may be mediated by neurotransmitters other than catecholamines, such as NPY, catecholesterogen, GABA. Peng *et al.*, (1993) demonstrated that in the goldfish, the gNPY stimulates both GH and GtH-II secretions both *in vitro* and *in vivo*. De Leeuw *et al.*, (1985) have suggested a possible mechanism for sex steroid negative feedback on the brain-pituitary axis by which estrogen is converted to catecholestrogens which in turn compete with DA for catechol-o-methyltransferase, leading to a decrease in DA degradation, increasing its inhibitory effects on GtH-II secretion.

According to Guerrero *et al.* (1990), a decrease in amine concentration reflects an increase in neurotransmission; while an increase in amine level indicates lower neural activity. Then, the increase in DA content with DOPAC concentration below the sensitivity of the method, observed in the hypothalamus of male tilapias kept under 24/0, may indicate a decrease in dopaminergic transmission at this age and this conditions. The present results show that there are sex differences in the response of tilapia to various photoperiods on GSI and gonadal weight, being females more sensitive. Such sex differences do not seem to be related to catecholaminergic and serotonergic hypothalamic systems, since the DA/NE relationship and serotonergic ratio were similar in females in the spite of the photoperiods. However in males both neural parameters showed significant differences in concentrations under the various regimens, without effects on gonadal development.

DA has inhibitory effects on gonadotropin secretion by acting directly on gonadotrophs. This effect on GtH-II release is effective within seconds of the exposure of pituitary cells to DA or the non-specific DA-agonist apomorphine (Peter *et al.*, 1986; Peter *et al.*, 1991). Besides, GtH-II secretion is also under the control of an inhibitory hormone (Peter *et al.* 1988), this release-inhibitory hormone, which is also produced in the hypothalamus, has been identified as dopamine. Treatment with antagonists of dopamine, like pimozide or domperidone, together with injections of LHRHa, leads to an enhanced release of GtH when compared with LHRHa alone, thus allowing for the dosage of LHRHa and the risks of excessive stimulation to be minimized (Bromage, 1995).

In conclusion, the present results suggest that there are sex differences in the neuroendocrine mechanisms regulating gonadal growth in *Oreochromis niloticus*, as well as in the participation of the light/dark conditions, being females more sensitive.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by PADEP No. 500304 and 500302 and partially by DGAPA IN219893, CONACYT IN1719 and PUIS, UNAM.

REFERENCES

- Abo Hegab, S., and W. Hanke, (1981). Changes in catecholamine content of the hypothalamus during adaptation of fish to changed external salinity. *General and Comparative Endocrinology* 44: 324-334.
- Anonymous, (1994). *Desarrollo Científico y Tecnológico del Banco de Genoma de tilapia*. Convenio SEPESCA-UAM-I. Secretaría de Pesca. México. 89.
- Billard, R., P. Reinaud, and P. Le Breen, (1981). Effects of changes of photoperiod on gametogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Reproduction, Nutrition, Development*, 21:1009-1014.

- Bromage, N., (1995). Broodstock Management and Seed Quality - General Considerations. In Bromage N.R. & R. J. Roberts (eds). *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. 1-24.
- Chang, J.P., and R.E. Peter, (1984). Influences of norepinephrine and α -adrenergic mechanisms on gonadotropin secretion in female goldfish *Carassius auratus*. *General and Comparative Endocrinology* 55: 89-95.
- De Leeuw, R., D.W. Smit-Van, J.W.J. Zígterman, J.C.M. Van Der Loo, J.G.D. Lambert, and J.H.Th. Goos, (1985). Aromatase, estrogen 2-hydroxylase, and catechol-O-methyltransferase activity in isolated, cultured gonadotropic cells of mature African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *General and Comparative Endocrinology* 60: 171-177.
- De Leeuw, R., H. J. Th. Goos & P.G.W.J. Van Oordt, (1987). The regulation of gonadotropin release by neurohormones and gonadal steroids in the African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture* 63: 43-58.
- Domínguez-González, A., P. Damian-Matsumura, C. Timossi, M. E. Cruz and R. Domínguez. (1998). Characterisation of monoamine neural activity of the preoptical anterior hypothalamic area and medial basal hypothalamus during proestrus day, and its relation with gonadotrophin and sexual steroid hormone plasma levels. *Medical Science Research*. (in press).
- Gissis, A., B. Levavi-Zermonsky, A. Bogomolnaya-Bass, and Z. Yaron, (1988). Gonadotropin levels in female tilapia treated with GnRH analog, and reserpine or pimozide. In Zohar Y., Breton B. (eds): *Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics*. Paris: INRA, 63-67.
- Guerrero, H.Y., G. Caceres, C.L. Paiva, and D. Marcano, (1990). Hypothalamic and telencephalic catecholamine content in the brain of the teleost fish *Pygocentrus notatus*, during the annual reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology* 80:257-263.
- Hoar, W. S., (1969). Reproduction. In "Fish Physiology" Vol. 3 (W.S. Hoar and D.J. Randal, eds.), Academic Press, New York. 1-59.
- Kah, O., V.L. Trudeau, B.D. Sloley, M.G. Martinoli, J.P. Chang, K.L. Yu, and R.E. Peter, (1991). Implication of GABA in the neuroendocrine regulation of gonadotrophin release in the goldfish (*Carassius auratus*). In A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, and M.S. Rolfe (eds.). *Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. 57-59. University of East Anglia, Norwich, UK.
- Khan, I.A., and K.P. Joy, (1988). Seasonal and daily variations in hypothalamic monoamine level and monoamine oxidase activity in the teleost *Channa punctatus* (Bloch). *Chronobiological International* 5: 311-316.
- Kordon, C., S. Drouva, G. Martínez de la Escalera, and R.I. Weiner, (1994). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation on luteinizing hormone and prolactin. In: Knobil & J. Neill (eds). *The Physiology of Reproduction*. Raven press. New York, 1621-1682.
- Lam, T.J., (1983). Environmental influence on gonadal activity in fish. In. Hoar W.S. and D.J. Radall (eds). *Fish Physiology*. Vol. IX, Part B. Academic Press. New York. 65-116.
- Macintosh, D.J. and D.C. Little, (1995). Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). In. Bromage, N.R. and R. J. Roberts (ed). *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science. USA. 277-320.
- Olcese, J., and V.L. de Vlaming, (1980). Interaction of environmental photoperiod and temperature on hypothalamic monoamine oxidase activity in *Carassius auratus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 66:153-155.
- Okuzawa, K., W. Furukawa, K. Aida, and Y. Hanyu, (1989). Effects of photoperiod and temperature on gonadal maturation, and plasma steroid and gonadotropin level in a cyprinid fish, the honmoroko *Gnathopogon caeruleus*. *General and Comparative Endocrinology* 75: 139-147.

- Peng, C., V.L. Trudeau, and R.E. Peter, (1993). Seasonal variation of neuropeptide Y actions on growth hormone and gonadotropin-II secretion in the goldfish: effects of sex steroids. *Journal of Neuroendocrinology* 52: 28-34.
- Peter, R.E., and L.W. Crim, (1979). Reproductive endocrinology of fishes: Gonadal cycles and gonadotropin in teleosts. *Annual Review of Physiology* 41: 323-335.
- Peter, R.E., (1981). Gonadotropin secretion during reproductive cycles in teleosts: influences of environmental factors. *General and Comparative Endocrinology* 45: 294-305.
- Peter, R. E., J.P. Chang, C.S. Nahorniak, R.J. Omeljaniuk, M. Sokolowska, S.H. Shih, and R. Billard, (1986). Interactions of catecholamines and GnRH in regulation of gonadotropin secretion in teleost fish. *Recent progress in Hormone Research* 42, 513-548.
- Peter, R.E., V.L. Trudeau, B.D. Sloley, C. Peng, and C.S. Nahorniak, (1991). Actions of catecholamines, peptides, and sex steroids in regulation of gonadotropin-II in the goldfish. In A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, and M.S. Rolfe (eds.). *Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. 30-34. University of East Anglia, Norwich, UK.
- Saligaut, C., G. Salbert, T. Bailhache, S. Bennani, and P. Jégo, (1992). Serotonin and dopamine turnover in the female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) brain and pituitary: Changes during the annual reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology* 85: 261-268.
- Scott, D.B.C., (1979). Environmental timing and the control of reproduction in teleost fish. *Symposium Zoology Soc. London* 44: 105-132.
- Senthilkumaran, B., and K.P. Joy, (1993). Annual variations in hypothalamic serotonin and monoamine oxidase in the catfish *Heteropneustes fossilis* with a note on brain regional differences of day-night variations in gonadal preparatory phase. *General and Comparative Endocrinology* 90: 372-382.
- Senthilkumaran, B., and K.P. Joy, (1995). Changes in Hypothalamic Catecholamines, Dopamine- β -hydroxylase, and Phenylethanolamine-N-methyltransferase in the Catfish *Heteropneustes fossilis* in Relation to Season, Raised Photoperiod and Temperature, Ovariectomy, and Estradiol- β Replacement. *General and Comparative Endocrinology* 97: 121-134.
- Skarphedinsson, O., A.P. Scott, and V.J. Bye, (1982). Long photoperiods stimulate gonad development in rainbow trout. *Proceeding of the International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. 62.
- Somoza, M.G., and R.E. Peter, (1991). Effects of serotonin on gonadotropin and growth hormone release from *in vitro* perfused goldfish pituitary fragments. *General and Comparative Endocrinology* 82: 103-110.
- Trudeau, V. L., B.D. Sloley, and R.E. Peter, (1993a). Norepinephrine turnover in the goldfish brain is modulated by sex steroids and GABA. *Brain Research* 624: 29-34.
- Trudeau, V.L., B.D. Sloley, A.O.L. Wong, and R.E. Peter, (1993b). Interactions of gonadal steroids with brain dopamine and gonadotropin-releasing hormone in the control of gonadotropin-II secretion in the goldfish. *General and Comparative Endocrinology* 89: 39-50.

Table 1. Standard length, body weight, GSI and concentration of norepinephrine, dopamine, serotonin (mean \pm SEM) of *Oreochromis niloticus* males and females at 30 days old.

Sex	n	Standard length (cm)	Body weight (g)	NE (ng/mg tissue)	DA (ng/mg tissue)	5-HT (ng/mg tissue)	GSI
Males	5	1.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.0	2.4 \pm 0.31	0.5 \pm 0.09	2.0 \pm 0.34	0.25 \pm 0.03
Females	5	1.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.0	1.3 \pm 0.32*	0.4 \pm 0.09	1.1 \pm 0.34	0.25 \pm 0.03

*p < 0.05 vs. males

Table 2. Standard length, body weight, gonadal weight and GSI (mean \pm SEM) of *Oreochromis niloticus* males and females kept in different photoperiod regimens for three months.

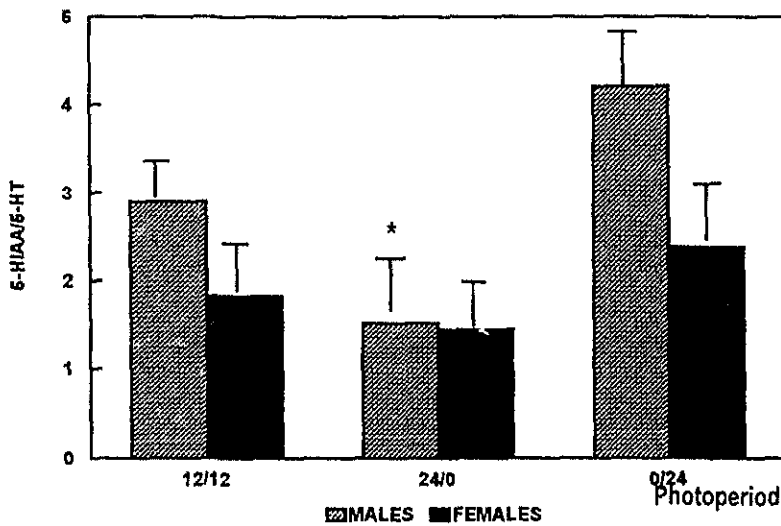
Light/dark	Sex	n	Standard length (cm)	Body weight (g)	Gonadal weight (mg)	GSI
12/12	males	23	7.68 \pm 0.33	15.1 \pm 1.78	66 \pm 14	0.45 \pm 0.11
24/0	males	23	7.18 \pm 0.43	12.8 \pm 2.08	96 \pm 31	0.48 \pm 0.09
0/24	males	19	7.23 \pm 0.43	14.0 \pm 2.16	74 \pm 18	0.42 \pm 0.07
12/12	females	11	6.70 \pm 0.65	10.2 \pm 2.83	184 \pm 119	0.81 \pm 0.39
24/0	females	8	7.01 \pm 0.62	11.9 \pm 2.67	293 \pm 111	1.69 \pm 0.53
0/24	females	12	6.79 \pm 0.40	10.8 \pm 1.73	409 \pm 126	2.84 \pm 0.77*

* p < 0.01 vs. females kept to 12/12

Table 3. Concentration of norepinephrine, dopamine, serotonin and DA/NE (mean \pm SEM) in the hypothalamus of *Oreochromis niloticus* maintained at different photoperiod regimens for three months.

Light/dark	Sex	n	Norepinephrine	Dopamine	Serotonin	DA/NE
			ng/mg tissue	ng/mg tissue	ng/mg tissue	(%)
12/12	males	22	2.60 \pm 0.43	0.55 \pm 0.19	2.51 \pm 0.46	0.34 \pm 0.12
24/0	males	21	2.60 \pm 0.52	2.20 \pm 0.31 *	2.69 \pm 0.46	2.33 \pm 1.13 +
0/24	males	19	4.62 \pm 0.72 \diamond	0.70 \pm 0.20	1.96 \pm 0.37	0.28 \pm 0.14
12/12	females	9	4.10 \pm 1.23	0.53 \pm 0.20	2.08 \pm 0.67	0.10 \pm 0.02
24/0	females	6	2.93 \pm 0.96	0.27 \pm 0.11	2.31 \pm 0.74	0.14 \pm 0.04
0/24	females	12	4.95 \pm 0.95	0.57 \pm 0.19	2.40 \pm 0.68	0.15 \pm 0.04

\diamond p < 0.05 vs. 12/12 and 24/0; * p < 0.05 vs. 12/12 and 0/24; + p < 0.1 vs. 12/12 and 0/24



* p < 0.05 vs 12/12 and 0/24

Fig. 1. The activity of serotonin neurons in males and females (mean \pm SEM) in the hypothalamus of *Oreochromis niloticus* maintained at different photoperiod regimens for three months. (* p < 0.05 vs. 12/12 and 0/24).