

APLICACION DE LAS HORMONAS GONADOTROPAS EN PISCICULTURA

SILVIA ZANUY * y MANUEL CARRILLO *

En los vertebrados superiores, la integración de los procesos reproductores y, por tanto, el control del ciclo sexual, vienen regidos por la presencia y acción de productos secretados por la pituitaria y las gonadas, liberados en el organismo de una manera cíclica. Estos ritmos de secreción están influenciados, en su mayor parte, por estímulos externos, entre los cuales se cuentan como más importantes el fotoperíodo y la temperatura. Un proceso similar gobierna la fisiología de la reproducción en los peces.

De aquí podemos deducir la gran aplicación que la administración de hormonas de carácter gonadotropo puede tener en piscicultura.

Esta técnica ha sido aplicada desde hace ya muchos años en diferentes países.

Brasil fue uno de los primeros países que se planteó este problema. Seguramente iniciaron tan pronto este tipo de experiencias porque la mayoría de los peces de agua dulce, que tienen importancia comercial en aquel país, no se reproducen en cautividad. En 1934 llegaron a la conclusión de que las hormonas hipofisarias inducían la puesta de hembras maduras, mantenidas en cautividad, al igual que se obtenía la expulsión de esperma en los machos, sometidos a las mismas condiciones. De esta manera, animales que en tales condiciones no hubieran llegado a la expulsión de sus productos sexuales, producían espermatozoides y óvulos totalmente viables.

De la misma época datan las primeras experiencias de los rusos. Estos han utilizado una serie de métodos de inducción por tratamiento con hor-

* Instituto de Investigaciones Pesqueras. Paseo Nacional, s/n. Barcelona-3.

monas gonadotropas, en un esfuerzo para conservar ciertas especies de esturiones, cuya puesta estaba amenazada por la construcción de pantanos, esclusas y plantas hidroeléctricas como consecuencia del progreso.

Hasta hace muy poco tiempo, y aun ahora, solamente Rusia y Brasil poseen un método de inyección de hormonas gonadotropas que es utilizado regularmente en las piscifactorías. Los demás países europeos, asiáticos y americanos cultivan peces, pero los métodos habituales no incluyen la inducción de la puesta, al menos de una manera regular. Las actividades se centran en la crianza y engorde de peces de pequeña talla. A pesar de que este método no está totalmente industrializado, son muchos los países que realizan experiencias de este tipo (Israel, Japón, Inglaterra, Estados Unidos, Italia, etc.), con el fin de estudiar los distintos inconvenientes de esta práctica, mejorar las técnicas ya existentes y determinar el rendimiento económico.

Las hormonas que tienen una acción clara sobre la maduración de las gonadas podríamos dividir las, de una manera general, en tres categorías:

a) Hormonas hipofisarias.

b) Hormonas extraídas de las envolturas embrionarias y suero sanguíneo.

c) Esteroides (con carácter androgénico o estrogénico).

Todos los experimentos realizados hasta el momento pertenecen a dos tipos:

Experimentos de inducción.—En tales experimentos, la inyección de hormona se administra a animales sexualmente maduros; tal inyección puede producir un adelanto de la puesta, con respecto a la que presentarían normalmente, que puede comprender desde unas horas a unos pocos días.

Experimentos de maduración.—Estos experimentos están encaminados a obtener la maduración. En este caso las inyecciones se administran a animales totalmente inmaduros.

Nosotros hemos obtenido respuesta en ambos casos. La inducción, en animales totalmente maduros, cuarenta y ocho horas después de la inyección. La maduración en *Serranus cabrilla*, solamente se ha conseguido cuando al mismo tiempo que se inyectaban, los peces estaban sometidos a unas condiciones de luz y temperatura muy similares a las ambientales que esta especie disfruta en su época de puesta natural. De esta manera se obtuvo maduración y puesta en los peces tratados unos pocos meses antes de su época de puesta natural.

Muchos investigadores (HAYDOCK, 1970; LEONG, 1971) han obtenido la maduración combinando estos tres factores (luz, temperatura y hormonas), otros solamente con inyección de hormonas (VILLANI, 1972) y, por fin, se ha obtenido la maduración de los peces sometidos a una permanencia muy prolongada en condiciones de luz y temperatura óptimas.

El tipo de tratamiento adecuado, tanto para obtener la inducción inmediata de la puesta, así como la maduración, varía de una especie a otra.

II. OBTENCION DE LAS HORMONAS GONADOTROPAS

De los tres tipos de hormonas que de una manera muy general enunciábamos anteriormente (hormonas de origen hipofisario, hormonas extraídas de las envolturas embrionarias y suero sanguíneo y esteroides), las dos últimas no presentan ningún tipo de dificultad a la hora de adquirirlas, puesto que son muchos los laboratorios industriales que las suministran, dada la gran importancia de estos fármacos en medicina. Por tanto, no vamos a ocuparnos de los métodos de obtención.

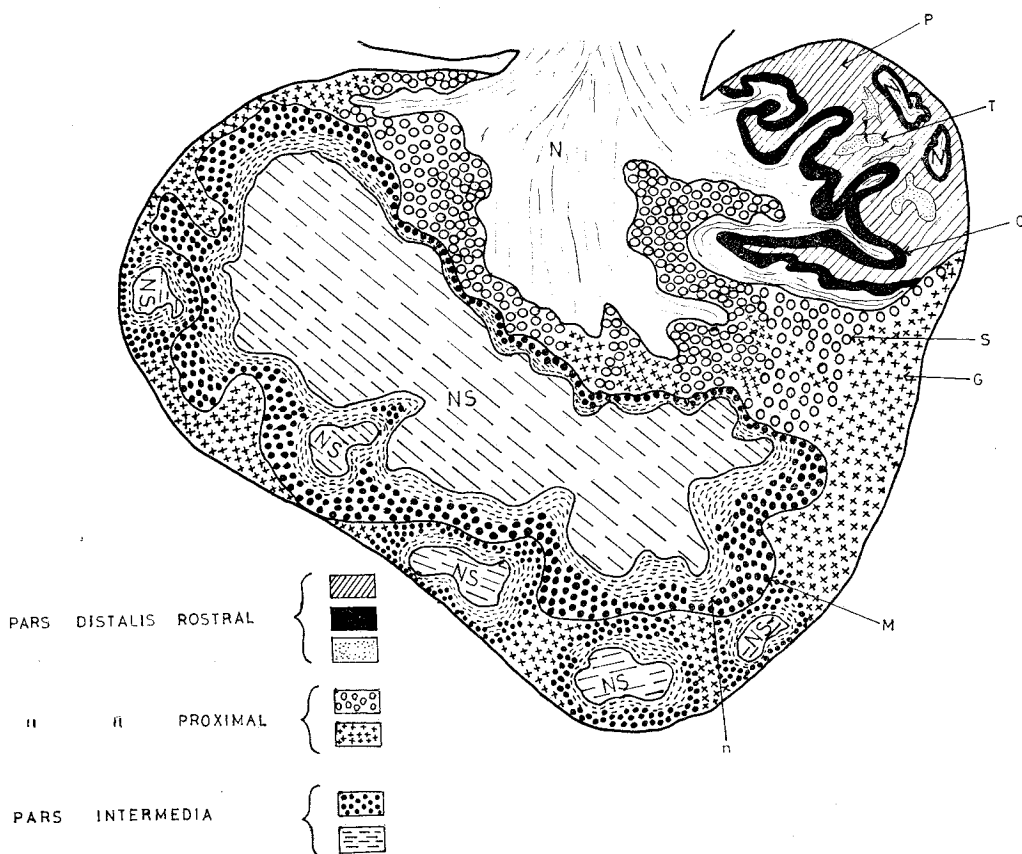


FIG. 1.—Corte sagital de una hipófisis de «*Spicara maena*»; PDR, pars distalis rostral; PDP, pars distalis proximal; PI, pars intermedia; N, neurohipófisis; S, células somatotropas; T, células tireotropas; C, células corticotropas; G, células gonadotropas; P, células prolactina; Mn, células melanocito estimulantes y melanocito dispersantes; NS, neurosecreción.

Las hormonas gonadotropas de la hipófisis, tanto en los vertebrados superiores como en los inferiores, son secretadas por la adenohipófisis. En los peces, la zona gonadotropa se encuentra en la «pars distalis proximal» de la glándula (fig. 1).

Algunas piscifactorías de unos pocos países (Israel, Estados Unidos y Yugoslavia) suministran hipófisis de peces, generalmente de carpa, convenientemente tratadas para evitar su alteración. Tal suministro puede resultar económico cuando se hacen experiencias con un número reducido de ejemplares, pero cuando se trata de gran cantidad de peces resulta demasiado caro. En este caso es de utilidad disponer de un «stock» de peces de poca importancia comercial, que suministren las hipófisis necesarias para inducir la puesta a otras especies con más demanda en el mercado.

Los peces que se utilizan como dadores se decapitan inmediatamente después de su pesca, extrayendo la hipófisis pocos minutos después de la muerte; no olvidemos que las hormonas gonadotropas de la hipófisis son glicoproteínas y que, como todas las proteínas, están sometidas a la degradación enzimática. Pueden servir también para este fin las hipófisis de los peces congelados en alta mar, pero los extractos obtenidos a partir de este material no siempre conservan la actividad gonadotropa de una manera uniforme.

Cuando se recogen hipófisis de una especie determinada es importante que la recolección coincida con la época de puesta de la especie en cuestión, puesto que la actividad gonadotropa de la pituitaria es máxima en el período inmediatamente anterior a la puesta y durante la misma, siendo mínima después de la puesta y manteniéndose constante durante la época de reposo sexual. El incremento de la actividad gonadotropa de la hipófisis durante estos dos períodos es paralelo al incremento de la PDP (pars distalis proximal) de la hipófisis (fot. 1 y 2). El examen histológico de esta zona durante la época de puesta pone de manifiesto la gran hipertrofia de las células gonadotropas (figura 1) en esta fase del ciclo sexual.

Existe también diferencia entre la actividad de las hipófisis de los machos y la de las hembras, siendo ligeramente superior en estas últimas. También la actividad de los extractos de animales adultos es superior a la de animales jóvenes (CLEMEND HOWARD, P., y SNEED KERMIT, E., 1962). Cuando se hacen experimentos aislados en el laboratorio, ambas consideraciones deben tomarse en cuenta, pero cuando se trata de inducir la puesta de un número considerable de peces no debe preocupar demasiado este particular. En este caso se administran conjuntamente hipófisis de machos y de hembras y de ejemplares de grande o pequeña talla; al necesitar grandes cantidades de hipófisis las diferencias quedan anuladas.

Las hipófisis pueden ser administradas:

a) Como extractos frescos, para lo cual se inyecta el sobrenadante, resultado de la centrifugación del homogenado de hipófisis y suero fisiológico. También pueden ser congeladas en el momento de la extracción con la ayuda de nieve carbónica y administradas, de la misma manera que antes, en sucesivas ocasiones.

b) Como extractos preparados. En este segundo caso las hipófisis, una

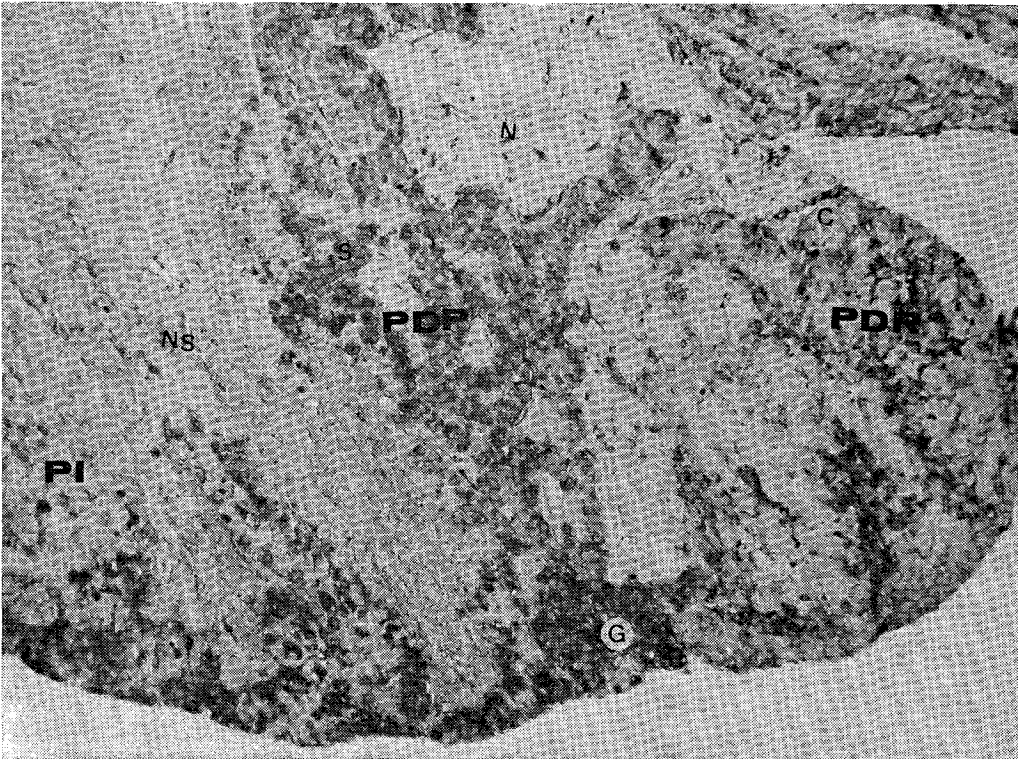


FOTO 1.—Corte sagital de «*Spicara maena*», donde se observan claramente las tres partes de la hipófisis, 10 × 8, AB-PAS. (Explicación de los símbolos en pie fig. 1).

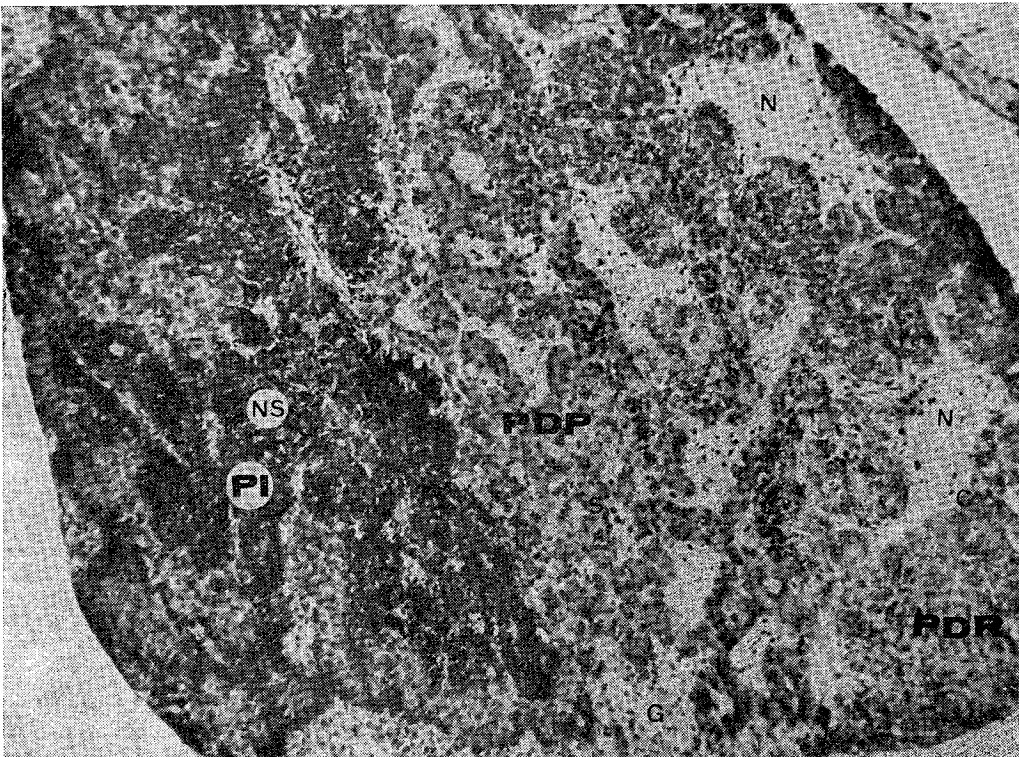


FOTO 2.—Idem foto 1, Hpb-eritrosina, 10 × 8. (Explicación de los símbolos en pie fig. 1.)

vez extraídas, se someten a diferentes procesos de deshidratación (PICKFORD, G. E., y ATZ, J., 1957):

Hipófisis conservadas en acetona.

Hipófisis preservadas en alcohol absoluto.

Hipófisis conservadas en glicerina.

Liofilizadas.

Se ha comprobado que todos estos métodos de conservación preservan la potencia gonadotropa de la hipófisis en la misma forma (PICKFORD, G. E., y ATZ, J., 1957; CLEMENS, H. P., 1966; CARRILLO y ZANUY, datos no publicados, 1970), las hipófisis conservadas de esta manera pueden mantener su actividad por espacio de algunos años.

En nuestras experiencias de inducción de la puesta y maduración de *Serranus cabrilla* hemos utilizado los extractos cetónicos, y hemos observado que la actividad de la hipófisis de *Merlangus poutassou*, que fue el pez utilizado como dador, conserva su actividad después de un año.

Las hipófisis así conservadas se inyectan en los peces después de haber sido machacadas en un mortero con suero fisiológico al 7 ‰. Al igual que en el caso de extractos frescos, se centrifuga el homogenado, inyectándose solamente el sobrenadante. La cantidad de extracto inyectado depende de muchos factores (si se pretende obtener maduración o solamente adelantar la puesta, calidad de los extractos, época del año en que han sido colectadas las hipófisis de los dadores, etc.), variando según la especie. De una manera general la cantidad de hipófisis inyectada se expresa en mg/de hipófisis/kg. de peso del cuerpo del pez que se inyecta.

III. ADMINISTRACION DE LAS HORMONAS GONADOTROPAS

La hormona se administra siempre en forma de inyección, ya sea intramuscular o intraperitoneal. Ambos procedimientos son igualmente válidos. En nuestras experiencias, en ambos casos, hemos acompañado la inyección con penicilina G sódica, con el fin de evitar las posibles infecciones bacterianas. La utilización de un anestésico en el momento de la inyección da excelentes resultados y reduce el peligro de infección, puesto que de esta manera la actividad del pez queda reducida al mínimo, y su manipulación es mucho más fácil. El uso de MS-222* SANDOZ (anestésico para peces, ranas y otros animales de sangre fría, metanosulfonato de m-aminobenzoato de etilo/C₁₀H₁₅O₅NS) ha sido totalmente satisfactorio en nuestras experiencias.

Hemos de señalar que la pituitaria posee seis tipos más de células secretoras, aparte de las encargadas de producir las gonadotrofinas, ya citadas (hay a menudo controversias entre los autores respecto a si el tipo de células productoras de gonadotrofinas en la hipófisis es uno o, por el contrario, son

* Suministrado gentilmente por la casa Sandoz.

dos), ACTH (células corticotropas), TSH (células tireotropas), células de prolactina, SH (células somatotropas) y los dos tipos de la «pars intermedia» (figura 1, fot. 1 y 2). Cada una de estas células es responsable de la secreción de otras tantas hormonas. Cuando se inyectan pituitarias con el fin de inducir la puesta, se administra al pez inyectado todo el complejo hormonal de la hipófisis, que puede tener mayor o menor actividad según la época de recolección

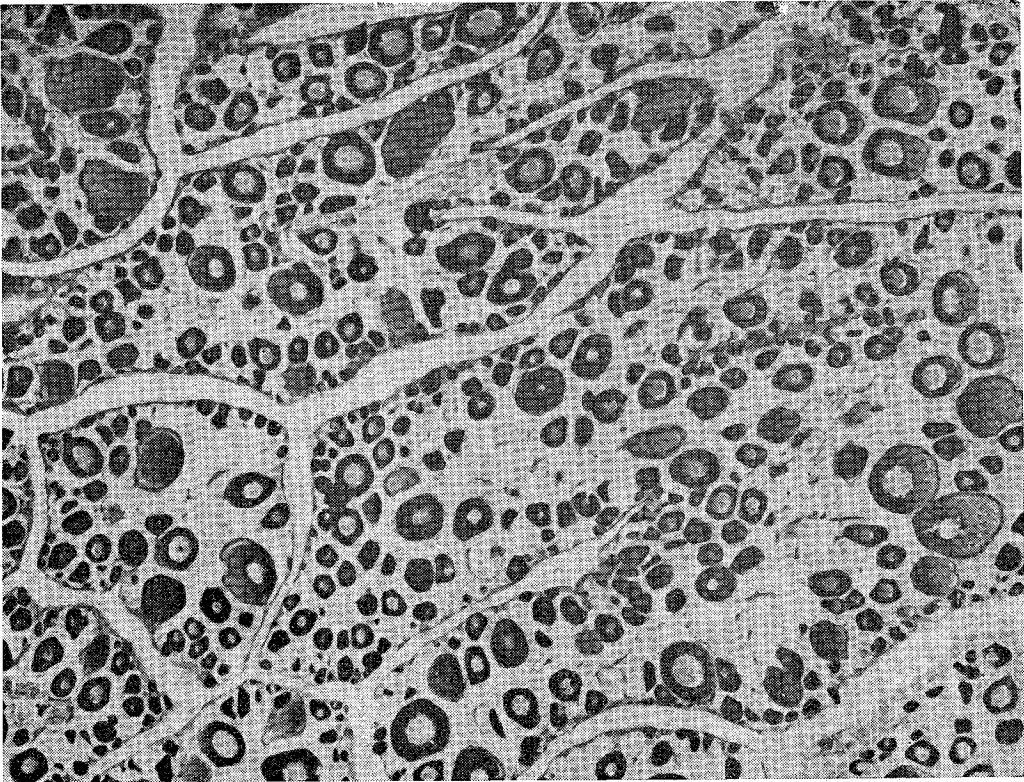


FOTO 3.—Detalle del ovario de un pez no tratado; 4×8 Hematoxilina-eosina.

de los dadores, pero que de todas formas existe. Interesa, por lo tanto, un producto, procedente de la pituitaria, con actividad gonadotropa, pero que no tenga ninguna acción sobre las demás funciones del organismo. Dicho producto se puede obtener mediante la purificación de los extractos hipofisarios (E. BURZAWA-GERARD, 1971). Los extractos purificados tienen actividad sobre la gonada de peces hipofisectomizados, en una dosis muy inferior, a la que se necesitaría, para obtener la misma respuesta con extractos sin purificar (BILLARD & col., 1970).

La inducción a la puesta y la maduración se pueden llevar también a cabo

mediante la administración de GCH (gonadotropina coriónica humana), HMG (gonadotropina extraída del suero de mujer menopáusica), PSM (suero de yegua preñada) y esteroides. Son muchos los investigadores que los inyectan solos, combinados entre sí o con los extractos hipofisarios de una manera sinérgica.

Nosotros hemos realizado varios experimentos con *Serranus cabrilla*, utilizando varios productos de acción gonadotropa: hipófisis de mamífero (percolados), hipófisis de carpa, hipófisis de *Merlangus poutassou* y *Spicara maena*, GCH, PSM y HMG. Los mejores resultados en esta especie se han obtenido con los tres últimos, habiéndose llegado, como decíamos antes, a la emisión de huevos y esperma en animales sexualmente maduros cuarenta y ocho horas después de la administración de GCH. Obtuvimos también respuesta positiva en animales que, por la época del año en que se inyectaron y una vez estudiado su ciclo natural de actividad sexual, tenían las gonadas en fase de reposo (fot. 3). En este caso, y como ya dejamos indicado, la emisión de huevos, tras masaje abdominal, solamente se ha conseguido cuando dichos peces han permanecido, durante el tratamiento con hormonas, en unas condiciones de luz y temperatura muy similares a las que poseen en su ambiente natural de puesta (fot. 4). Los huevos que se han obtenido de esta manera (fot. 5), son totalmente viables (fot. 5). Estos huevos, eclosionaron a las setenta y cuatro horas a 21 °C y a los cuatro días a 14 °C \pm 1 (fot. 5, 6 y 7). En este último caso la mortalidad es mucho menor.

El libro de PICKFORD, G. E., & ATZ, J. (1957) sobre la fisiología de la glándula pituitaria de los peces, y los trabajos de CLEMENS, H. P., sobre el cultivo de los peces tropicales y de agua dulce en Norteamérica, pueden servir de gran ayuda para todos aquéllos que estén interesados en el cultivo de peces.

IV. RESUMEN

La respuesta a las inyecciones de productos con actividad gonadotropa y la dosis necesaria para provocar la puesta, varía con las especies y con el desarrollo gonadal. Es fácil inducir la puesta durante la época en que aquélla tiene lugar normalmente; a menudo basta una sola inyección para obtener el desove. El número de inyecciones necesarias podríamos decir que es casi inversamente proporcional al grado de desarrollo de la gonada.

Las hormonas gonadotropas son capaces de provocar la puesta por sí mismas, al menos en animales maduros.

Parece que existe muy poca especificidad en las hormonas gonadotropas de los peces, ya que las procedentes de animales tan alejados taxonómicamente como son los mamíferos, son capaces de provocar la puesta en aquéllos.

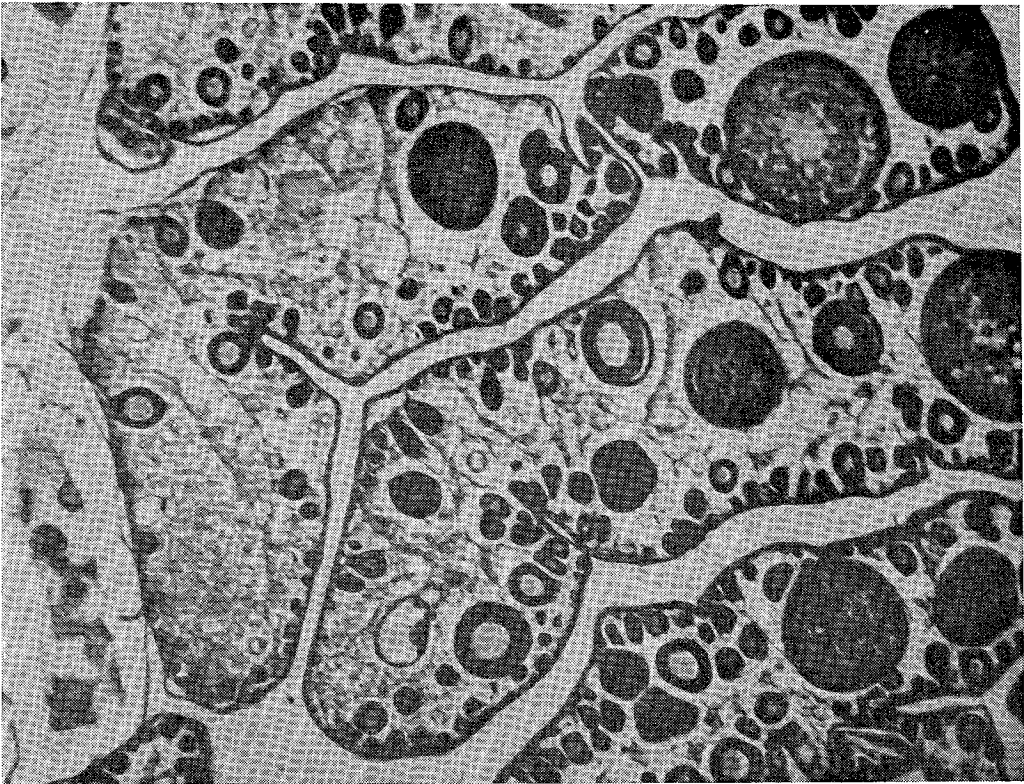


Foto 4.—Detalle del ovario de un pez tratado con GCH y sometido a unas condiciones de luz y temperatura similares de las de la época natural de puesta, compárese con la foto 3, 4×8 Hematoxilina-eosina.

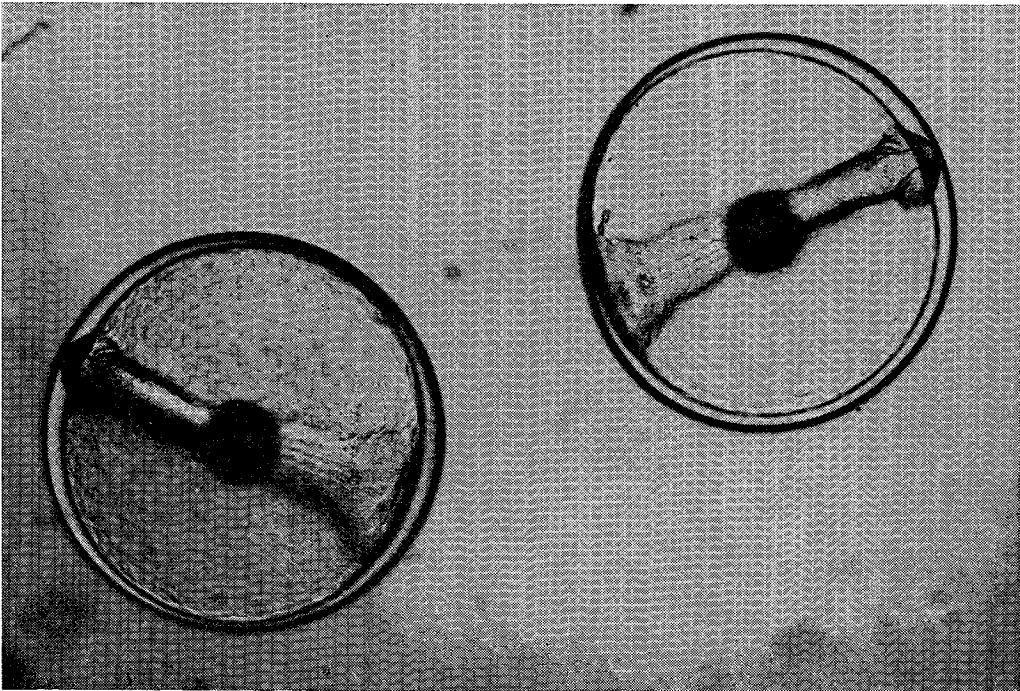


Foto 5.—Huevos de «*Serranus cabrilla*», a las 24 horas de incubación a 20° C.

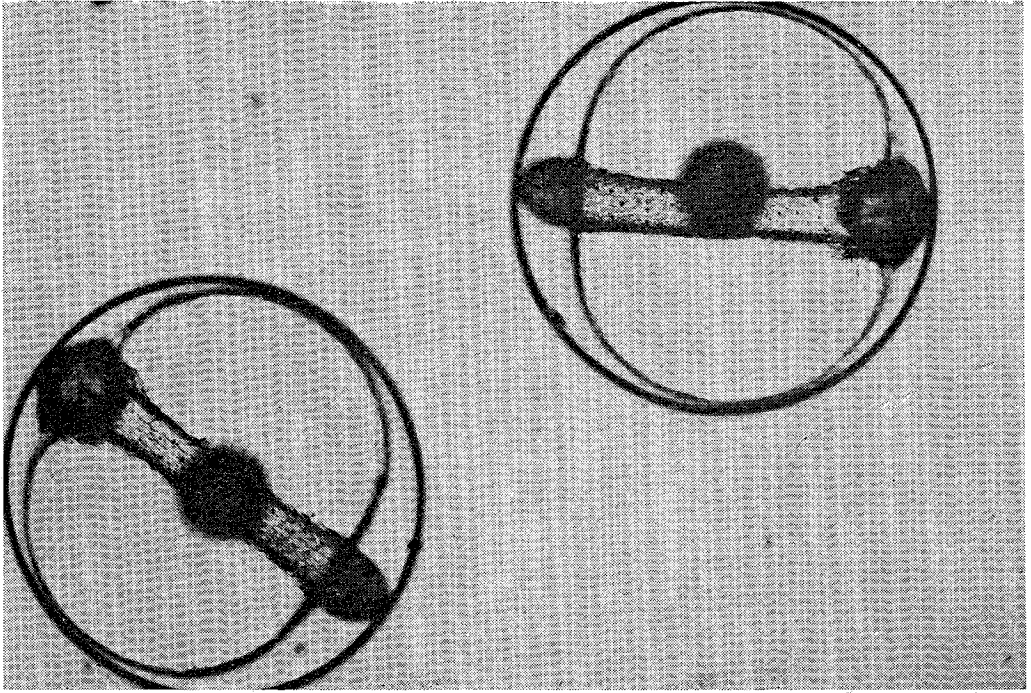


FOTO 6.—Detalle de los huevos de «Serranus cabrilla», a las 36 horas de incubación a 20° C.

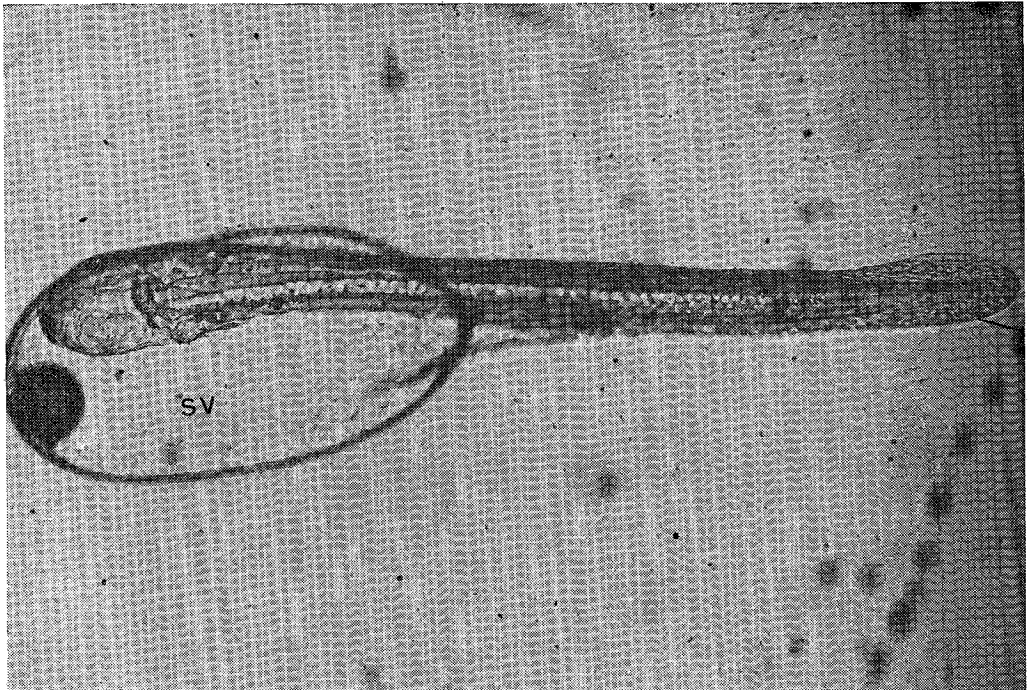


FOTO 7.—Larva de «Serranus cabrilla», a las 24 horas después de la eclosión; SV, saco vitelino.

Se puede inducir la puesta, fuera de la estación, en cualquier época del año.

En condiciones normales, la administración de hormonas gonadotropas no disminuye la fertilidad del animal tratado.

La luz y la temperatura son factores muy importantes, actuando de una manera decisiva sobre la maduración.

BIBLIOGRAFIA

- BILLARD, M. R., E. BURZAWA-GÉRARD, B. BRETON, 1970: Régénération de la spermatogenèse du Cyprin hypophysectomisé *Carassius auratus* L. par un facteur gonadotrope hautement purifié de Carpe. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 271: 1896-1899.
- BOETIUS, J., I. BOETIUS, A. M. HEMMINGSEN, A. F. BRUUN, & E. MÖLLER-CRISTENSEN AL., 1962: «Studies of Ovarial Growth Induced by Hormone Injections in the European and American Eel (*Anguilla anguilla* L. and *Anguilla rostrata* Le Sueur)». *Meddelelser fra Danmarks Fiskeri-og Havundersogelser*, N. S., 3 (7): 183-198.
- BURZAWA-GERARD, E., 1971: «Purification d'une hormone gonadotrope hypophysaire de poisson téléostéen, la carpe (*Cyprinus carpio* L.)». *Biochimie* 53 (4): 545-552.
- CLEMENS, H. P., & SNEED, K. E., 1962: «Bioassay and Use of Pituitary Materials to Spawn Warm-Water Fishes». *Research Report Fish and Wildlife Service*, 61: 1-30.
- 1966: «A Review of Selection and Breeding in the Culture of Warm-Water Food Fishes in North America». *FAO World Symposium on Warm-Water Pond Fish Culture*, FR: IV/R-4: 1-14.
- COMBS, B. D., & BURROWS, R. E., 1959: «Effects of Injected Gonadotrophins on Maturation and Spawning of Blue-Back Salmon». *The Progressive Fish-Culturist*, 21 (4): 165-168.
- DIMOVSKA, A., 1971: «Structure Histologique de l'Hypophyse de la Perche de Doïran (*Perca fluviatilis macedonica* Kar.)». *Izdanija*, IV (8): 1-31.
- HAYDOCK, I., 1971: «Gonad Maturation and Hormone-Induced Spawning of the Gulf Croaker, *Bairdiella icistia*». *Fishery Bulletin*, 69 (1): 157-180.
- LEONG, R., 1971: «Induced Spawning of the Northern Anchovy, *Engraulis mordax* Girard». *Fishery Bulletin*, 69 (2): 357-360.
- OLIVIEREAU, M., & FONTAINE, M., 1966: «Etude cytologique de l'hypophyse de l'Anguille femelle mûre». *Com. rend. séan. Soc. Biol.*, 160 (7): 1374.
- PICKFORD, G. E., & ATZ, J. W., 1957: «The Physiology of the Pituitary Gland of Fishes». *New York Zoological Society*, 613 pp.
- SNEED, K. E., & CLEMENS, H. P., 1959: «The Use of Human Chorionic Gonadotrophin to Spawn Warm-Water Fishes». *The Progressive Fish-Culturist*, 21 (3): 117-120.
- 1960: «Hormone Spawning of Warm-Water Fishes: Its Practical and Biological Significance». *The Progressive Fish-Culturist*, 22 (3): 109-113.
- SNEED, K. E., & DUPREE, H. K., 1961: «The Effect of Thyroid-Stimulating Hormone Combined with Gonadotrophic Hormones on the Ovation of Goldfish and Green Sunfish». *The Progressive Fish-Culturist*, 33 (4): 179-182.
- VAN OVERBEEKE, A. P., & MCBRIDE, J. R., 1967: «The Pituitary Gland of the Sockeye (*Oncorhynchus nerka*) During Sexual Maturation and Spawning». *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 24 (8): 1791-1809.
- VILLANI, P., 1972: «Comunicación personal».