

## CONTENIDO

### CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1 BIOLOGÍA DE LALUBINA.....	10
1.1.1 Aspectos reproductivos de la lubina .....	11
1.1.2 Estructura y función del testículo.....	12
1.1.3 Pubertad y espermatogénesis en la lubina.....	14
1.2 LA REPRODUCCIÓN EN PECES: EJE CEREBRO-PITUITARIA- GÓNADA.....	20
1.2.1 Hormona liberadora de las gonadotrofinas (GnRH).....	21
1.2.2 Gonadotrofinas.....	22
1.2.3 Esteroides sexuales .....	25
1.2.3.1 Progestinas.....	26
1.2.3.2 Andrógenos .....	27
1.2.3.3 Estrógenos.....	28
1.2.4 Kisspeptinas.....	29
1.2.5 Melatonina.....	30
1.2.6 Aminoácidos y otras hormonas de importancia en el proceso reproductivo en peces.....	31
1.3 CONTROL ENDOCRINO DE LA ESPERMATOGÉNESIS EN PECES.....	34
1.4 MADURACIÓN PRECOZ O PUBERTAD PREMATURA.....	41
1.4.1 Pubertad prematura de la lubina .....	45
1.5 CONTROL FOTOPERIÓDICO DE LA PUBERTAD PREMATURA DE LA LUBINA .....	46

### CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

OBJETIVOS .....	53
-----------------	----

### CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 REGÍMENES FOTOPERIÓDICOS Y ANIMALES.....	57
3.2 ANÁLISIS BIOMÉTRICO, MORFOLÓGICO Y PRECOCIDAD .....	58
3.3 HISTOLOGÍA GONADAL.....	60

3.4 ANÁLISIS HORMONAL .....	60
3.5 EXPRESIÓN DE GENES.....	61
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	64

#### **CAPÍTULO 4. ARTÍCULO 1**

IDENTIFICATION OF A PHOTOLABILE PERIOD FOR REDUCING SEXUAL MATURATION IN JUVENILE MALE SEA BASS ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) BY MEANS OF A CONTINUOUS LIGHT REGIME.....	67
Introduction .....	67
Materials and methods.....	70
Animals and photoperiodic regimes .....	70
Morphological and precocity analysis.....	70
Hormonal analysis .....	71
Testis histology.....	71
Statistical analysis .....	71
Results.....	72
Trial 1 .....	75
Trial 2 .....	77
Discussion.....	79
Acknowledgments.....	82
References.....	82

#### **CAPÍTULO 5. ARTÍCULO 2**

ADVANCED PUBERTY TRIGGERED BY BI-WEEKLY CHANGES IN REPRODUCTIVE FACTORS DURING THE PHOTOLABILE PERIOD IN A MALE TELEOST FISH, <i>Dicentrarchus labrax</i> L.....	89
Introduction .....	89
Materials and methods.....	91
Animals and photoperiodic regimes .....	91
Growth, gonadal maturation and sample collection.....	92
Hormonal analyses .....	93
Relative expression of <i>fsh<math>\beta</math></i> in the pituitary and <i>amh</i> , <i>star</i> , <i>er<math>\beta</math>1</i> and <i>er<math>\beta</math>2</i> in the gonad by quantitative real-time PCR.....	93
Statistical analysis.....	94

Results .....	96
Growth and male maturation .....	96
Seasonal changes in the content of three forms of GnRH in the brain and <i>fnshβ</i> expression levels in the pituitary .....	100
III	
Seasonal changes in <i>amh</i> , <i>star</i> , <i>erβ1</i> and <i>erβ2</i> expression levels in the gonad and evolution of spermatogonial mitoses in males.....	102
Seasonal changes in hormonal plasma levels .....	105
Discussion.....	107
Acknowledgements .....	111
References.....	112

### **CAPÍTULO 6. ARTÍCULO 3**

EFFECT OF COMBINING DIFFERENT PHOTOPERIOD REGIMES ON THE SEXUAL MATURATION OF MALE SEA BASS ( <i>Dicentrarchus labrax</i> L.) DURING THE FIRST TWO YEARS OF LIFE.....	125
Introduction .....	125
Materials and methods.....	127
Fish and experimental conditions.....	127
Sampling protocol.....	129
Statistical analysis .....	130
Results.....	130
Growth.....	130
Gonadomatic Index.....	135
Spermiation rate .....	136
Duration of spermiation in males.....	139
Discussion.....	140
Acknowledgement.....	144
References.....	145

### **CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN**

DISCUSIÓN.....	151
----------------	-----

## **CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES**

CONCLUSIONES .....	159
--------------------	-----

## **CAPÍTULO 9. BIBLIOGRAFÍA**

BIBLIOGRAFÍA .....	163
--------------------	-----

## **LISTADO DE FIGURAS**

### **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN**

<b>Figura 1.1.</b> Lubina europea ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ).....	10
<b>Figura 1.2.</b> Distribución geográfica de la lubina ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) .....	11
<b>Figura 1.3.</b> Estructura de un testículo tipo lobular en un pez teleósteo .....	13
<b>Figura 1.4.</b> Esquema representativo de la espermatogénesis en peces .....	16
<b>Figura 1.5.</b> Microfotografías de testículos de lubina ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )....	18
<b>Figura 1.6.</b> Ruta de biosíntesis de los esteroides gonadales en peces teleósteos.....	26
<b>Figura 1.7.</b> Resumen de las principales rutas y factores endocrinos que afectan el proceso espermatogénico en peces.....	41
<b>Figura 1.8.</b> Regímenes de luz continua (LL) aplicados durante el primer año de vida en machos de lubina y que reducen significativamente la maduración precoz .....	48

### **CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS**

<b>Figura 3.1.</b> Medición de la longitud del pez mediante tabla graduada.....	59
<b>Figura 3.2.</b> Pez abierto en canal.....	60
<b>Figura 3.3.</b> Placa utilizada para el análisis mediante ELISA de las distintas hormonas estudiadas.....	61

### **CAPÍTULO 4. ARTÍCULO 1**

<b>Figura 4.1.</b> Photoperiod regimes applied in the present study. ....	72
<b>Figura 4.2.</b> Average weight (A), length (B), and precocity (C) of different fish populations.....	73
<b>Figura 4.3.</b> Linear regression for the rate of spermiating males versus fish weight (A) and length (B) for prepubertal male sea bass assessed during the	

period of maximum spermiation .....	74
<b>Figura 4.4.</b> Indicators of the maturation process in juvenile male sea bass kept under different 2-month photoperiod regimes of LL. ....	76
<b>Figura 4.5.</b> Indicators of the maturation process in juvenile male sea bass kept under different 1-month photoperiod regimes of LL, assessed during February.....	78

## **CAPÍTULO 5. ARTÍCULO 2**

<b>Figura 5.1.</b> Evolution of somatic growth and condition factor (FC) in juvenile male sea bass.....	98
<b>Figura 5.2.</b> Evolution of testicular development in juvenile male sea bass.....	99
<b>Figura 5.3.</b> Brain seabream (GnRH1), chicken-II (GnRH2) and salmon (GnRH3) GnRH content in juvenile male sea bass.....	101
<b>Figura 5.4.</b> Evolution of <i>fsHβ</i> and <i>amh</i> expression and mitotic index of spermatogia type A (SPGA) at early gametogenesis in juvenile male sea bass, kept under natural photoperiod (NP), continuous light (LL) from 15 aug to 15 sep in otherwise NP (LLa/s) and LL all the year around (LLy). ....	103
<b>Figura 5.5.</b> Relative changes in expression of star, <i>erβ1</i> and <i>erβ2</i> in the gonad of juvenile male sea bass .....	104
<b>Figura 5.6.</b> Changes in plasma levels of E2, 11-KT, T and Fsh in juvenile male sea bass.....	106
<b>Figura 5.7.</b> Summary of the effects of continuous light during the photolabile period at early gametogenesis .....	111

## **CAPÍTULO 6. ARTÍCULO 3**

<b>Figura 6.1.</b> Schematic representation of the experimental designs and photoperiod regimes for the three independent trials conducted in this study.....	128
<b>Figura 6.2.</b> Monthly changes in mean ( $\pm$ SEM) body weight, fork length and condition factor during the second annual cycle for male .....	133
<b>Figura 6.3.</b> Specific growth rates for body weight (GW) and fork length during the second annual cycle for male sea bass.....	134
<b>Figura 6.4.</b> Linear regression of male sea bass condition factor versus specific growth rate for weight and rate of precocity versus specific growth	

rate for length.....	135
<b>Figura 6.5.</b> Monthly changes in gonadosomatic index mean values during the second annual cycle of life of male sea bass.....	136
VI	
<b>Figura 6.6.</b> Percentage of running sea bass males kept under the different photoperiod regimes .....	138
<b>Figura 6.7.</b> Traits of the maturation process in male sea bass during the second annual cycle.....	139

## LISTADO DE TABLAS

### CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

<b>Tabla 1.1.</b> Estados de desarrollo gonadal de la lubina.....	17
<b>Tabla 1.2.</b> Tipos y características de las células germinales presentes en la espermatogénesis de la lubina .....	19
<b>Tabla 1.3.</b> Resumen del efecto de otras sustancias que intervienen en el proceso reproductor de peces teleósteos.....	32
<b>Tabla 1.4.</b> Resumen de algunas especies de interés acuícola que tienen pubertad prematura en condiciones de cultivo intensivo.....	43

### CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS

<b>Tabla 3.1.</b> Características de los cebadores y método de detección empleado para los análisis de expresión génica mediante qRT-PCR.....	63
---	----

### CAPÍTULO 5. ARTÍCULO 2

<b>Tabla 5.1.</b> Gene-specific primers and Taqman and SybGreen fluorogenic probes, used in this study for qRT-PCR analysis. ....	95
---	----