



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

Efecto del citrato de clomifeno sobre la fecundidad en
Poecilia reticulata

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA:

EDUARDO MENDIOLA GONZÁLEZ

DIRECTORA: BIOL. ASELA RODRÍGUEZ VARELA

ASESOR: M. EN C. ADOLFO CRUZ GÓMEZ



Ecología
de Peces

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla

2003.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres Emma y David, de quienes tuve siempre su ejemplo, consejo y apoyo incondicional, sin el cual nunca hubiera podido terminar esta meta.

A mis hermanos, Fernando, Daniel y Luis.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por haberme regalado el milagro de la vida.

Agradezco a la maestra Asela y al maestro Fito por la asesoría que me brindaron para la conclusión de este trabajo, por su paciencia, su ayuda y amistad.

A mis sinodales: Biol. Asela del Carmen Rodríguez Varela, M. en C. Adolfo Cruz Gómez, M. en C. Mario Fernández Araiza, M. en C. Alba Márquez Espinoza y al M. en C. Rodolfo Cárdenas Reygadas, por sus comentarios que contribuyeron a mejorar mi trabajo.

A todos los profesores que tuve a lo largo de la carrera que me dieron parte de sus conocimientos sobre esta, la más maravillosa de las carreras.

A mis amigos y compañeros de la carrera, con quienes he vivido momentos muy agradables de reposo y de trabajo: Marco, Bernardo, Andrea, Oscar, Laura, Ana Laura, Eu, Anel, Elisa, Lulú, Anita, Hugo, a los juanos, Víctor, Lupe, Omar, Ale, a Raúl, por si un día llegarás a hojear esta tesis; a Chucho, a Mireya, Elisa y Mariana.

ÍNDICE	Pag.
RESUMEN IZT.	1
INTRODUCCIÓN	2
HIPÓTESIS	4
OBJETIVOS	5
ANTECEDENTES	5
DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE	10
METODOLOGÍA	13
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	47
LITERATURA CITADA	48

RESUMEN

Con el objeto de incrementar la fecundidad natural del guppy, se administró citrato de clomifeno (cc) en concentraciones de 0, 12.5, 25 y 50 mg en 30 g de hojuelas comerciales en acuarios experimentales conteniendo 12 peces, en proporción sexual de 3:1 para cada tratamiento. Se mantuvieron a una temperatura de 26.76 °C +/-1.5, oxígeno disuelto a 7.72 ml/l +/- 1.8 y pH de 8.7 +/- 0.13. Se administró diariamente el 3% de su biomasa y después de 60 días de experimentación fueron sacrificados, pesados y medidos en su longitud estándar pesándose además hígado y gónada, para obtener los índices hepatosomático y gonadosomático. Se cuantificó el número total de huevos, con el cual se obtuvo índice de fecundidad relativa y se registraron huevos inmaduros, maduros y embriones así como el diámetro de cada uno de ellos. Se realizaron dos réplicas y se aplicó ANOVA de un factor para determinar la existencia o no de diferencias significativas entre las concentraciones del fármaco. De manera adicional se elaboraron los modelos exponenciales de crecimiento en longitud y peso para descartar la inmadurez de los peces como afectadores del resultado reproductivo encontrado. Se presentó una mayor fecundidad promedio en el grupo control con 98.15 huevos/hembra, siguiéndole la concentración de 25 mg con 81.91 huevos/hembra, la de 50 mg con 70.69 huevos/hembra y la de 12.5 con 61.4 huevos/hembra, por lo que el fármaco empleado no incrementó la fecundidad promedio del guppy como se esperaba e inclusive la disminuyó. Asimismo, el grupo control presentó los valores mas altos de peso de gónada e hígado, índice hepatosomático y eficiencia de conversión alimenticia. Pero se observó, que si bien no incrementó la fecundidad, todas las concentraciones presentaron una mayor cantidad de embriones y huevos maduros, así como los mayores diámetros de dichos elementos, específicamente, la de 12.5 mg presentó el mayor porcentaje de embriones (22.59) y diámetro de los huevos maduros (1.79 mm), la de 25 mg el mayor diámetro de embriones (2.17 mm) y la de 50 mg el mayor porcentaje de huevos maduros (31.06) y del índice gonadosomático (14.94), en comparación con el grupo control. Otro efecto que se observó por la administración del cc fue el “gemelismo”, donde se incrementó su porcentaje de aparición por aumento de la concentración utilizada, ya que el 25% de la población sometida a 50 mg de cc, presentó este suceso. Se concluye que las concentraciones usadas de éste fármaco sobre el guppy, no incrementaron su fecundidad, aunque aceleró el proceso de la maduración de los huevos por incremento en número y tamaño, así como producir gemelos a partir de un solo huevo.

INTRODUCCIÓN

Los miembros de la familia Poeciliidae son pequeños peces restringidos a la porción suroeste de los Estados Unidos y hacia Centroamérica. Específicamente, los guppys (*Poecilia reticulata*) se distribuían originalmente en Venezuela, Barbados, Norte de Brasil y Guayana (SCHLÖTZ y DAHLSTRÖM, 1977). Sin embargo, en la actualidad ha sido introducido en numerosas regiones infestadas por mosquitos transmisores de la malaria con el fin de controlar sus poblaciones, ya que son voraces devoradores de larvas de dípteros. Pertenecen al orden de los Cyprinodontiformes. “Están cercanamente emparentados a la familia de los killys (Cyprinodontidae) y es difícil separarlos basándose en sus caracteres estructurales” (EDDY y UNDERHILL, 1982).

Difieren de la mayoría de los peces dulceacuícolas en su modo de reproducción que es ovovivípara, por lo que las hembras paren crías vivas. Los machos poseen un órgano intromitente, el gonopodio, desarrollado a partir de la modificación de la aleta anal. La fertilización es interna, el macho deposita espermatozoides en el tracto genital de la hembra. La hembra porta los huevos en desarrollo internamente hasta que salen del huevo y los jóvenes emergen vivos desde la hembra (EDDY y UNDERHILL, *op. cit.*).

El inicio de la reproducción ovovivípara de estos organismos, según SANDFORD (1996), comienza a los tres meses en el caso de las hembras y un poco menos de esto en los machos. Por su parte CHAUMETON *et al.* (1991) afirman que la gestación dura de cuatro a seis semanas, dependiendo de la temperatura, por ejemplo a los 24°C, la gestación dura 30 días y es más rápida si se eleva la temperatura, mencionan también que una hembra adulta es capaz de engendrar de 50 a 100 crías en cada alumbramiento.

Estos peces son utilizados por sus características estéticas como especies de ornato, educativas e incluso terapéuticas, debido a lo anterior es que ha crecido su demanda en una gran dimensión, por todo esto, la producción de peces de ornato constituye un recurso de explotación renovable muy importante (PETROVICK, 1990).

No obstante, el considerable desarrollo de este pasatiempo conlleva simultáneamente la depredación de los medios naturales. Es más cómodo pescar un pez en su hábitat que intentar “criarlo” en cautiverio, lo cual resulta a veces una labor muy ardua. Por este motivo es por el que cada año decenas

de millones de peces exóticos son sacados de ríos y mares tropicales (CHAUMETON *et al.*, *op. cit.*).

Además, el estudio de la biodiversidad ha revelado que las actividades humanas ejercen una marcada influencia en la disminución del número de especies, en el tamaño y variabilidad genética de las poblaciones silvestres y en la pérdida irreversible de hábitats y ecosistemas (DÍAZ-PARDO y SOTO-GALERA, 2001).

En este sentido, RAMÍREZ-PÉREZ (1997) afirma “el crecimiento de las sociedades ha modificado el medio natural en que viven muchas especies, la contaminación de los ríos y otros cuerpos de agua es el resultado del desarrollo tecnológico, el crecimiento demográfico y el uso de nuevos métodos de agricultura, factores determinantes para que entren a los ecosistemas, cantidades constantes de diferentes sustancias químicas y tóxicas...”. Y es debido a estos daños al ambiente que gran número de especies de peces continentales estén amenazadas o al borde de la extinción.

La *piscicultura ornamental*, que se inició en Japón, tiene por objetivo producir especies bellas y raras para adornar fuentes y estanques de parques públicos y jardines particulares. Esta piscicultura se ha incrementado notablemente en los últimos años por el interés que se ha desarrollado en el establecimiento de acuarios domésticos y públicos (CIFUENTES *et al.*, 1997).

“La acuicultura, como un medio para la conservación de las especies acuáticas en peligro de extinción, es una realidad y sólo se necesita intensificar los programas de investigación que permitan conocer mejor sus ciclos biológicos. Estas investigaciones y sus aplicaciones permitirán conservar una fauna que participa en el equilibrio ecológico y que tiene no sólo interés científico sino también comercial” (CIFUENTES *et al.*, *op. cit.*).

Aún con la gran cantidad de organismos que se pueden producir en poco tiempo, es necesario sin embargo aumentar la cantidad de crías para darle abasto a un mercado cada vez más amplio, como lo demuestra el caso de Singapur, el mayor exportador de guppy del mundo que aumentó su exportación de S\$ 16.4 millones en 1976 a S\$ 74 millones en 1993, lo cual muestra que “el volumen de comercio de acuario en el mundo está lejos de la saturación y existe campo para un mayor desarrollo” (<http://www.science.nus.../fish/guppy/guppy.html>); y así de paso ayudar a

disminuir la presión sobre las poblaciones silvestres debida al saqueo de las aguas continentales.

En el presente trabajo se utilizó el fármaco citrato de clomifeno (cc), que es un compuesto derivado del tri-fenil-etileno, aunque no es un esteroide está relacionado desde el punto de vista químico con un medicamento de propiedades estrogénicas (clorotrianiseno) y con un inhibidor del colesterol (triparanol) (VERNOCCHI y RODRÍGUEZ, 1996).

Tiene una acción central a través del hipotálamo, bloqueando sus receptores estrogénicos lo que lleva a la liberación, en consecuencia, del GnRH que a su vez produce la liberación de gonadotropinas hipofisarias. Estas estimulan al ovario en reposo desencadenando el mecanismo ovulatorio (VERNOCCHI y RODRÍGUEZ, *op. cit.*).

Si el uso de este fármaco (cc) tiene éxito en aumentar la fecundidad viable del guppy, esto seguramente podría dar la pauta para aplicarse a otras especies de la familia (como a *Gambusia alvarezi*, *Poecilia latipunctata*, *P. velifera*, *Poeciliopsis latidens*, *Xiphophorus couchianus*, *X. meieri*) e incluso a otras familias como Goodeidae (*Girardinichthys viviparus*, *Skiffia francesae*, *Gila nigrescens*), Cyprinodontidae (*Algansea barbata*, *A. popoche*) y Cichlidae (*Cichlasoma urophthalmus*, *C. intermedium*) todas ellas endémicas y que se encuentran en peligro de extinción o amenazadas, según la NOM-059-ECOL-2001 (Diario Oficial de la Federación, 2002), colaborando de esta manera a incrementar indirectamente las poblaciones que viven en los ambientes naturales, debido a una disminución de la extracción de los mismos, posibilitando de esta manera la conservación de especies y es en este contexto en que la investigación se dirige a este objetivo. Ya varios autores han publicado la administración de algunas hormonas y fármacos para inducir la ovulación de las hembras en diferentes especies (ver antecedentes).

HIPÓTESIS

La fecundidad de los guppies será afectada con relación a la concentración utilizada de fármacos anovulatorios.

OBJETIVOS

- Determinar si el citrato de clomifeno (cc) promueve un aumento en la cantidad de óvulos producidos por la hembra de *Poecilia reticulata*.
- Determinar la concentración óptima para lograr una superovulación viable.

ANTECEDENTES

Varios autores han descrito en sus trabajos los resultados obtenidos de su experimentación con diversas hormonas o fármacos en algunas especies de peces, a continuación se muestran algunos de ellos:

De los estudios que han utilizado LHRHa se encuentran:

FERMÍN (1991) propuso la inducción de la maduración de los oocitos y la ovulación en carpa cabezona (*Aristichthys nobilis*) mediante el uso de LHRH-a y domperidona (DOM) en inyecciones. Pese a ello, el total de huevos desovados, fertilizados y criados no presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los dos grupos experimentales (LHRH-a + DOM y HCG + LHRH-a) con peces ovulados, puesto que los grupos control no desovaron. Sin embargo, los tratamientos de inyección usando LHRH-a + DOM y HCG + LHRH-a fueron igualmente efectivos en la inducción del desove de la carpa cabezona, pero la primera tiene un costo económico menor que la segunda combinación.

ALVARIÑO *et al.* (1992), estimularon la ovulación y secreción de esteroides por inyección de LHRHa en hembras del pez *Dicentrarchus labrax*, llegando a la conclusión de que éste no actúa como esteroide inductor de la maduración en la ovulación de éste pez.

HADDY y PANKHURST (2000), probaron la eficacia de hormonas exógenas en la estimulación de la ovulación en hembras silvestres sexualmente maduras del pez *Acanthopagrus buteheri* capturadas con caña de pescar e inyectados con una solución salina, gonadotropina coriónica humana (hCG) o análogo de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRHa) en la captura, o 24 h posteriores a la captura (solo tratamientos salino y LHRH). El total de peces fueron monitoreados durante cinco días después de la inyección para constatar

si se daba la ovulación. Los peces inyectados con solución salina ovularon solo el día uno, mientras el tratamiento con LHRHa o hCG resultaron en la ovulación de los peces a lo largo del experimento. El tratamiento con LHRHa a la captura resultó en una mejor respuesta ovulatoria que el tratamiento con hCG a la captura o con el tratamiento LHRHa a las 24 h de la captura. Sus resultados muestran que el estrés por la captura y su manejo reduce las respuestas del pez al tratamiento con hormonas exógenas y que los mejores resultados son obtenidos si el tratamiento hormonal se administra al tiempo de la captura.

Otras investigaciones que han utilizado otras sustancias análogas son:

YAMAZAKI y DONALDSON (1968), probaron los efectos de la gonadotropina hipofisiaria de salmón parcialmente purificada con gel Sephadex G-100 sobre la vitelogénesis y la ovulación en pez dorado (*Carassius auratus*). El requerimiento hormonal necesario para la vitelogénesis (nueve inyecciones de 0.5 mg parcialmente purificadas de gonadotropina de salmón por 10 g de peso del cuerpo) y para la ovulación (una inyección de 0.3 mg por 10 g de peso de cuerpo). El hecho de que la gonadotropina de salmón puede producir la maduración en pez dorado indica una similitud en la naturaleza química de la gonadotropina de salmón y pez dorado.

HAMMAN (1985), indujo el desove de la carpita elegante (*Gila elegans*) un ciprinido endémico del Río Colorado y listado en peligro de extinción. La ovulación fue inducida con inyecciones de pituitaria de carpa. En 1983, las 24 hembras ovularon de 18 a 20 h después de recibir la inyección de hipófisis de carpa. La fecundidad varió de 1,015 a 10,340 (media 4,990); el cálculo del número de huevos por kg de peso del cuerpo fue de 36,909. En 1984, 11 hembras ovularon 20 h después de la inyección, la fecundidad varió de 12,112 a 21,445 (media 16,464); el cálculo del número de huevos por kg de peso de cuerpo fue de 52,669. La crianza para la propagación de esta especie parece realista para prevenir su extinción.

SEMMENS (1985), utilizó hipófisis de carpa secada con acetona en inyección intraperitoneal para inducir a la ovulación al chupador azul (*Cycleptus elegantus*) con éxito.

SHIREMAN y GILDEA (1989), indujeron el desove del tiburón arcoiris (*Labeo crythrurus*) y tiburón negro cola roja (*L. bicolor*), ambos ciprinidos,

mediante la combinación de inyecciones de extracto de hipófisis de carpa mas gonadotropina coriónica humana o reserpina más análogo de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH-a; des-gly¹⁰[D-ala⁶] LHRH ethylamide). Los peces inyectados solo con LHRH-a no desovaron, sugiriendo que un factor inhibitorio de liberación de gonadotropina (GRIF, que ahora sabemos es la Dopamina DA) puede estar presente. Las inyecciones con reserpina anteriores al LHRH-a aparentemente tienen un efecto inhibitor sobre la DA. Ambos esquemas de inyección son convenientes y pueden usarse para desovar a estos peces.

GOETZ (1993), estudió la participación de la proteína kinasa C en la estimulación agonista de la ovulación de pez dorado. La thapsigargin es un potente estimulante de la ovulación, en contraste con el ionóforo calcio A23,187. En suma, este estudio confirma que PMA/A 23,187 estimula la ovulación por la estimulación de PKC, además, los resultados sugieren que la ovulación inducida por orthovanadate o thapsigargin no requiere activación PKC.

CEVALLOS-OROZCO (1996), valoró histológicamente el efecto de la reserpina en la ovogénesis de la carpa común (*Cyprinus carpio*). Obtuvo resultados en los que se aprecia un incremento estadísticamente significativo ($P < 0.05$) en los ovocitos de tipo Ib en el grupo experimental con respecto a los demás grupos, lo que sugiere que este fármaco estimula las primeras fases de la ovogénesis en la carpa común.

En los siguientes estudios se trabajó con GnRH-a (y con otras en combinación con la GnRH-a):

HARMIN y CRIM (1992), indujeron la ovulación y desove en hembras platijas *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum), aplicando GnRH-a. Obteniendo una aceleración fidedigna de la ovulación y desove, aproximadamente tres meses antes de la temporada de desove. Estudios de la calidad de los huevos y las larvas, como los rangos de fertilización de huevos, crianza y supervivencia larval, demostraron una buena calidad y por tanto puede utilizarse como un tratamiento para producir y acelerar el desove mediante GnRH-a.

BURTON *et al.* (1998), evaluaron el potencial de entrega de un análogo de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH-a) mediante su bioencapsulación en *Artemia* para inducir la ovulación en el pez cardenal tetra

(*Paracheirodon axelrodi*). La exposición de la *Artemia* a la hormona fue de 30 y 60 min. Fue óptimo para inducir la ovulación, mientras periodos más largos o más cortos muestran una tendencia a decrementar el porcentaje de ovulación del pez.

MUGNIER *et al.* (2000), provocaron la inducción y sincronización del desove en turbot cultivado (*Scophthalmus maximus* L.) mediante una inyección que contiene el análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas GnRH-a, [D-Ala⁶-Pr⁹-Net]-hormona liberadora de la hormona luteinizante. Encontró una sincronización significativa en las hembras, reduciendo el tiempo de la temporada de desove en casi la mitad.

ALOK *et al.* (1999) evaluaron los efectos de la GnRH nativa y varios agonistas en pez gato de la India, *Heteropneustes fossilis*. Su estudio probó antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas del salmón GnRH(s) y agonistas (m)GnRH de mamíferos donde un residuo D-aminoácido fue sustituido en la posición seis o la C-terminal fue modificada con etilamida. Los agonistas GnRH con una combinación de estas modificaciones estructurales fueron evaluados por separado para ver los efectos en el pez. Concluyeron que la sustitución en la posición seis y en conjunción con una modificación basada en la etilamida y la C-terminal en la estructura nativa (s)GnRH, incrementa la potencia de los agonistas probados para inducir desove en el pez gato.

En los siguientes estudios fue utilizado el cc para inducir la ovulación:

PANDEY y HOAR (1972), reportaron el papel del cc en la inducción a la ovulación en pez dorado, en hembras grávidas a 13-14 C, cuando la ovulación se lleva a cabo a unos 20 C, las hembras fueron inyectadas intraperitonealmente con dos dosis de cc (1µg/g y 10 µg/g) a las 3 p.m. y revisadas para la ovulación en la mañana, los experimentos fueron terminados después de cinco días, el clomifeno en ambas dosis fue efectivo en inducir la ovulación dentro de cuatro días. Los huevos así obtenidos fueron viables y de su fertilización se desarrollaron alevines normales.

PANDEY *et al.* (1973), trataron de entender cual es su vía de acción, según las dos hipótesis que había, que era directamente a través del nivel gonádico o indirectamente vía del eje hipotálamo hipofisario, para ello hipofisectomizaron peces dorados hembras grávidas y operaron "falsamente" a un grupo testigo al que realmente no hicieron nada, fueron colocados en

agua a 13 ± 0.5 C e inyectados intraperitonealmente con una dosis de 10 $\mu\text{g/g}$ de cc y revisaron por cinco días las ovulaciones y encontraron que ninguno de los peces hipofisectomizados ovularon y que 12 de los 14 peces “falsamente operados” ovularon, así que su experimento apoya la idea de que el cc actúa vía el eje hipotálamo hipofisiario.

CHANG *et al.* (1992), estimularon la ovulación en ayu, *Plecoglossus altivelis*, mediante tratamiento con antiestrógenos y LHRH análoga (hormona análoga inductora de la hormona luteinizante). Su objetivo fue determinar los efectos de retroalimentación negativa de estrógenos en ayu, por tratamiento con enclomifeno (cis-clomifeno), zuclomifeno (tras-clomifeno), cc y LHRH-análoga. La ovulación fue estimulada en algunos peces por enclomifeno y cc. La mayoría de los ayu que fueron inyectados con LHRHa ovularon. La inyección de enclomifeno o cc a 20 mg/kg de peso indujo una mejor respuesta ovulatoria que 2 mg/kg peso.

IZT.

ÁLVAREZ *et al.* (1996), analizaron el efecto del cc adicionado en el alimento para estimular la reproducción en peces de ornato, esto en las especies: pez ángel, beta, molly albina y velífera, danio cebra, gourami, coridura y tetra, alimentándolos con el 1 al 3% de la biomasa total de cada especie. De todas estas especies, solo obtuvieron resultados positivos en beta, molly velífera y albina, con uno a tres desoves durante marzo a mayo de 1996.

ÁVILA *et al.* (1997), indujeron a la ovulación a la “naca” (*Dormitator maculatus*) procedente del sistema estuarino lagunar de Alvarado, Veracruz y lo aclimataron a condiciones de laboratorio. Los organismos fueron alimentados (con el 3% de su biomasa total) con alimento comercial enriquecido y adicionado con un mg de cc por cada 100 g de hojuelas. Evidenciaron que el fármaco actuó en la gónada de las hembras, cuantificándose que el 75% de las hembras analizadas y sometidas a experimentación mostraron tendencias a alcanzar la madurez gonádica y con ello a un probable desove.

CRUZ *et al.* (1997), realizaron el estudio histológico de la gónada de *Dormitator maculatus* tratada con inductor de ovulación, los peces fueron colectados en Alvarado, Ver. en estadios larval, juvenil y adulto y transportados y acondicionados al laboratorio, fueron alimentados diariamente con el 3% de su biomasa, con alimento en hojuelas adicionado con 1mg de cc por cada 100g de alimento. Los resultados histológicos muestran que el cc actuó sobre las gónadas de las hembras, ya que se evidenció un desarrollo



U.N.A.M. FES
IZTACALA

adecuado de la misma, con óvulos bien desarrollados y poca atrofia en comparación con organismos no tratados con el fármaco, los cuales se encontraron en etapas de desarrollo mas indiferenciadas.

Una revisión mediante el análisis de estudios realizados con cc fue el de ADASHI (1984), el cual elabora en su artículo un análisis de la forma de acción del cc, si actúa ejerciendo un efecto hipotalámico directo, hipofisiario directo, u ovárico directo y basándose en la evidencia experimental formula una hipótesis: el total de los efectos pro fertilidad del cc sobre el eje reproductivo pueden no solo reflejar las consecuencias de sus interacciones con el hipotálamo, pero más bien, puede representar la suma de sus efectos directos sobre los niveles hipotalámico, hipofisiario y ovárico.

DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

***Poecilia reticulata*, Peters**

Los guppys son pequeños peces dulceacuícolas tropicales, ovovivíparos y por lo tanto de fecundación interna, pertenecientes a la familia Poeciliidae del orden de los Cyprinodontiformes. Generalmente nunca sobrepasan los seis cm de longitud y las hembras son más grandes que los machos. Tienen la boca oblicua, ojos grandes, el dorso deprimido y el pedúnculo caudal alto y lateralmente comprimido. Los primeros radios de la aleta anal en los machos están modificados a manera de estructura intromitente de forma alargada denominada gonopodio, el que presenta una ranura media en la que se deposita el esperma. Durante la fecundación, el gonopodio se dobla hacia delante y se introduce en el orificio genital de la hembra, la cual tiene la capacidad de almacenar el esperma hasta mas de 10 meses, por lo que pueden alumbrar varias generaciones de crías a partir de un solo apareamiento. En estado silvestre los machos presentan jaspeados o manchas negras dispuestas irregularmente, e irisaciones rojas, azules y verdes en los costados. Las hembras son menos llamativas, de color amarillo grisáceo o verdoso (TORRES-OROZCO, 1991).

El guppy se encuentra naturalmente en la Antillas Holandesas, Islas Venezolanas, Trinidad, Winward (Barbados) y las islas Leeward.(St. Thomas y Antigua) y al occidente de Venezuela a Guyana; registrados de las Antillas Lesser pueden representar introducciones (ROSEN y BAILEY 1963 en MEFFE y

SNELSON, 1989). ENDLER (1980 en MEFFE y SNELSON, *op. cit.*) incluye el noreste de Venezuela, Margarita y Tobago como parte de su distribución natural. Este es una altamente popular especie de acuario y el segundo poecílido mas ampliamente introducido a nivel mundial; también ha sido empleado con el propósito de agente de control del mosquito (MEFFE y SNELSON, *op. cit.*).

En su estado silvestre el guppy habita típicamente cuerpos de agua pequeños y poco profundos (manantiales, ciénegas, presas) o áreas marginales poco profundas de cuerpos de agua más grandes (ríos y lagos). Estas áreas típicamente son hábitats de aguas someras, a menudo parcial o totalmente cubiertas de vegetación u otra cobertura. El hecho de que prefieran estos lugares para vivir es a causa de la depredación, puesto que hay menos depredadores en estos sitios que en aguas más profundas, además de que es una forma de garantizarse una mayor concentración de oxígeno al estar cerca de la interfase agua-aire y proveerse de mayor calor durante la temporada fría (MEFFE y SNELSON, *op. cit.*).

Dentro de las características que le han ayudado a colonizar nuevos ecosistemas están su amplio rango de tolerancia a la salinidad, no obstante selecciona salinidades cercanas a las típicamente ocupadas por ellos en la naturaleza. La máxima temperatura que soporta es de arriba de unos 32°C, pero los machos prefieren temperaturas (24.5°C) significativamente más frescas que las hembras (28.2°C) o los juveniles (28.2°C) (JOHANSEN y CROSS, 1980, en MEFFE y SNELSON, *op. cit.*). Sin embargo, la diferencia sexual en la tolerancia termal no es clara, TSUKUDA (1960 en MEFFE y SNELSON, *op. cit.*) reportó que no existe una diferencia significativa en la tolerancia al calor o al frío de machos y hembras y GIBSON (1954 en MEFFE y SNELSON, *op. cit.*) encontró que ambos sexos tienen en pruebas similares temperaturas letales. Su rango de preferencia de temperatura va de 20 a 30°C (LAUDIEN y SCHLIEKER, 1981 en MEFFE y SNELSON, *op. cit.*).

Básicamente puede decirse que son omnívoros ya que puede alimentarse de larvas de mosquitos, de crustáceos (*Daphnia sp.*, *Artemia sp.*, *Cyclops*), gusanos tubifex, larvas de peces, incluidas las propias, ya que presentan canibalismo filial, así como también de algas y plantas vasculares (AXELROD, 1994).

SISTEMÁTICA (MEFFE y SNELSON, *op. cit.*)

Reino Animalia

Phylum Chordata

Clase Osteichthyes

Orden Cyprinodontiformes

Familia Poeciliidae

Subfamilia Poeciliinae

Supertribu Poeciliini

Tribu Poeciliini

Género *Poecilia* Bloch y Schneider, 1801

Subgénero *Poecilia* Bloch y Schneider, 1801

Especie *Poecilia reticulata*, Peters.

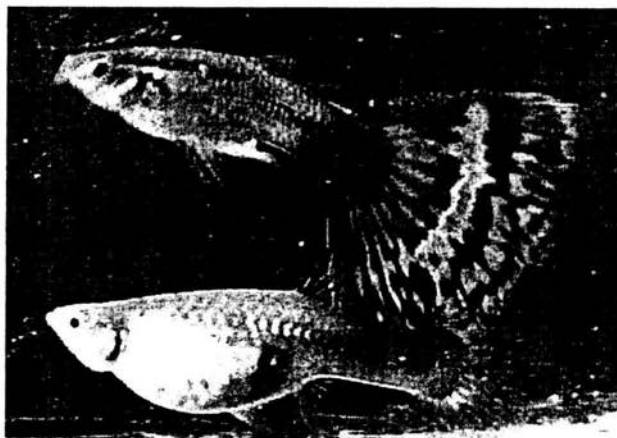


Figura 1. Fotografía de una pareja de guppys mantenidos en el Laboratorio de Ecología de Peces, FES Iztacala.

METODOLOGÍA

El desarrollo experimental se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Ecología de Peces de la UNAM FES Iztacala, durante el periodo de Agosto del 2001 a Mayo del 2002.

Para la realización de la experimentación se obtuvieron peces del centro de distribución Mercado Emilio Carranza, seleccionando preferentemente peces maduros o en proceso de maduración (jóvenes). Los peces fueron mantenidos en cuarentena en peceras de vidrio de 33 litros de agua (la cual, cabe mencionar es ligeramente dura), a una temperatura de $26.5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, que contenían filtro de caja, termostato de 10 watts, aireación constante por medio de un sistema de bombeo y alimentación con hojuelas comerciales (wardley) “*ad libitum*”. Antes del ingreso de los peces, se adicionó pentabocare como acondicionador y posteriormente azul de metileno como desinfectante.

Se formaron tres grupos experimentales y uno control, cada uno consistió de 12 peces en proporción de tres hembras por un macho. Se mantuvieron a $26.76^{\circ}\text{C}, \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ y aireación permanente.

Las dosis a experimentar fueron 12.5 mg de cc/30 g de alimento seco, 25 mg de cc/30 g de alimento seco y 50 mg de cc/30 g de alimento seco, por su parte el grupo control se alimentó con las hojuelas, pero sin el fármaco.

Para la administración del fármaco, de acuerdo a las especificaciones del laboratorio (Industria Farmacéutica Serono S.p.A.), la vía de administración fue oral a través del alimento, además de la incapacidad de usar inyecciones en ellos en virtud del tamaño de los peces, por lo que se procedió a utilizar el método de evaporación del alcohol (GUERRERO, 1975 en RUELAS, 1995), que se describe a continuación:

- a) Se pulveriza la pastilla lo más fino posible y se diluye en 100 ml de alcohol.
- b) Se muelen 30 g de alimento en hojuelas y se tamiza con una malla de dos mm.
- c) La solución de alcohol con el fármaco se agrega al alimento pulverizado.
- d) Se realiza la mezcla del alimento y la solución con el fármaco mezclándolos durante 15 minutos, se deja secar hasta que el alcohol se

evapora completamente y el alimento quede totalmente seco, esto toma de 24 a 48 horas.

La ración de alimento diario que se les proporcionó a los peces de cada grupo experimental y control fue del 3% de su biomasa, dividida en dos raciones, una de las cuales se administró en la mañana y la otra en la tarde, para lo cual se pesaron utilizando una balanza marca Ohaus, modelo Scout de 200g de capacidad y precisión de 0.01g y el alimento se pesó con una balanza digital marca Acculab de capacidad máxima de 10g y precisión de 0.001g. La ración alimenticia fue ajustada cada semana con base en la biomasa total que fueron presentando los peces (RUELAS, *op. cit.*).

Antes de administrar el alimento en la mañana se extrajo por medio de sifoneo las excretas y el alimento que no fue consumido por los peces. Con el fin de evitar que el alimento quedará atrapado en el filtro, se cubrieron éstos con malla de abertura de 125 μm . Se cuantificó la cantidad mediante su pesado en papel filtro, para la determinación de la eficiencia de conversión alimenticia.

Se registró la longitud patrón de los organismos con un vernier semanalmente, para determinar su crecimiento, así como el factor de condición.

Cada semana se monitorearon los principales aspectos fisicoquímicos: temperatura mediante un termómetro Brannan de 10 a 50°C, oxígeno disuelto del agua mediante la técnica de Winkler y el pH con un pHmetro Oakton, Waterproof, modelo WD-35624-74.

La aplicación del fármaco se realizó por 60 días, al término del cual se evaluó la eficacia de las concentraciones experimentadas mediante los siguientes criterios:

Número de huevos inmaduros, huevos maduros y embriones producidos por gónada. Se tomó al total de la población hembra de cada grupo y se sacrificó para determinar el número promedio de elementos producidos por gónada, mediante la técnica de disección ovárica que consistió en extraer los ovarios de la cavidad visceral del organismo y fijarlos con formol al 10%, de esta manera se determinó el índice de fecundidad.

Una vez sacrificados, se procedió a pesar (mediante la balanza Ohaus, Scout) el pez completo, las gónadas y el hígado y se registró la longitud estándar. Esto con el fin de obtener los siguientes índices relacionados con la madurez gonádica (RODRÍGUEZ, 1992).

El índice gonadosomático (IGS):

$$\text{IGS} = (\text{Wg}/\text{Wt}) * 100$$

Donde **Wg** es el peso de la gónada y **Wt** es el peso del ejemplar.

El factor de condición simple (K) (RICKER, 1958 en RODRÍGUEZ, 1992):

$$K = W/L^b$$

En donde, **W** es el peso en gramos, **L** la longitud en centímetros y **b** es la pendiente del análisis de regresión de la relación peso-longitud.

El índice hepatosomático (IHS):

$$\text{IHS} = (\text{Wh}/\text{Wt}) * 100$$

Donde **Wh** es el peso del hígado y **Wt** el peso del ejemplar

Se calcularon los modelos de crecimiento exponencial, tanto en longitud como en peso (RICKER, 1975):

$$L = L_0 e^{rt}$$

$$W = W_0 e^{rt}$$

Donde L_0 y W_0 son la ordenada al origen, e es la base de los logaritmos naturales y r es la pendiente o la velocidad de crecimiento de los organismos en longitud y peso.

Así como, la relación peso-longitud mediante el modelo:

$$W = a L^b$$

Donde W es el peso, a es el factor de condición, L es la longitud y b es el valor de la pendiente obtenida del análisis de regresión y que indica la relación de crecimiento (isométrica o alométrica) que pueda haber.

Para la determinación del crecimiento relativo, tanto en peso como en longitud se calculó conforme a:

$$CR_w = (W_f - W_i / W_i) * 100$$

$$CR_{long} = (L_f - L_i / L_i) * 100$$

Donde L_f y W_f son la longitud y el peso promedio final respectivamente; L_i y W_i , la longitud y peso promedio inicial respectivamente.

La tasa de incremento diario neto en longitud y peso se calcularon de la siguiente manera:

$$a = L_2 - L_1 / t$$

$$a = W_2 - W_1 / t$$

Donde a es la tasa de crecimiento diario neto en longitud (mm/día) o en peso (g/día), L_2 y P_2 son longitud o peso final, L_1 y P_1 longitud y peso inicial y t tiempo (en días).

Para la eficiencia de conversión del alimento, se utilizó la fórmula (HEPIER, 1993):

$$\text{Eficiencia de conversión del alimento} = G \cdot 100 / R$$

Donde **G** es la ganancia de peso, resultado de la resta del peso promedio final menos el peso inicial de los peces y **R** es el peso total del alimento consumido, resultado de la resta del alimento suministrado menos el peso del alimento no consumido.

A los resultados relativos a la madurez gonádica, se les aplicó un análisis de varianza de un factor, para determinar si existen diferencias significativas entre tratamientos (DANIEL, 1996).

Se realizaron al término del experimento dos réplicas para confirmar resultados.

RESULTADOS

La fecundidad total promedio presente en el grupo control fue de 98.15 ($S = 36.3$), para la dosis de 12.5 mg de cc se encontró un total de huevos promedio de 61.4 ($S = 15$), para la dosis de 25 mg de clomifeno se presentó un promedio del total de huevos de 81.91 ($S = 21.47$) y en la dosis de 50 mg de cc se encontró un promedio del total de huevos de 70.69 ($S = 27.5$) (Fig. 2). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), por lo que el número de huevos totales fue mayor en el grupo control.

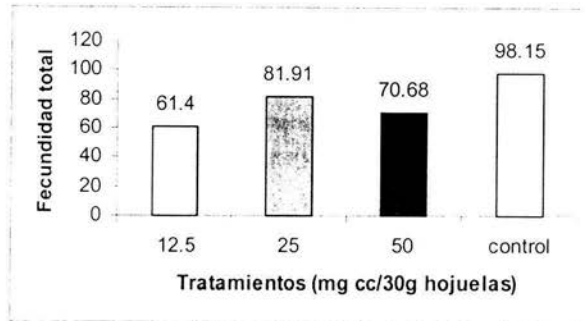


Figura 2. Fecundidad total promedio para cada tratamiento.

Para los embriones del grupo control se contaron un promedio de 8.55 embriones/ gónada ($S = 11.33$), en la dosis de 12.5 mg de cc se tuvo un promedio de 12.6 embriones/ gónada ($S = 10.89$), para la dosis de 25 mg de clomifeno se obtuvo una media de 9.08 embriones/ gónada ($S = 13.06$) y para la dosis de 50 mg de clomifeno se encontró un promedio de 8.93 embriones/ gónada ($S = 9.8$) (Fig. 3). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), aunque la mayor cantidad de embriones observable se presentó en el grupo al que se le aplicaron 12.5 mg de cc.

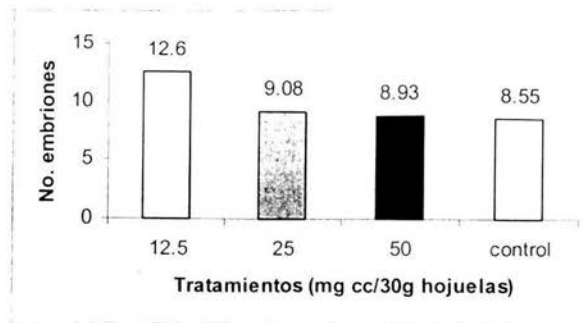


Figura 3. Número promedio de embriones por tratamiento.

Para el control, con respecto a los huevos maduros se encontró un promedio de 28.3 ($S = 18.52$), en la dosis de 12.5 mg de cc se obtuvo un promedio de huevos maduros de 16.1 ($S = 9.18$), en la dosis de 25 mg de clomifeno se obtuvo una media de huevos maduros de 22 ($S = 19.13$) y para la dosis de 50 mg de clomifeno se encontró un promedio de 21.125 ($S = 11.08$) (Fig. 4). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), aunque el mayor número de huevos maduros observables se registró en el grupo control.

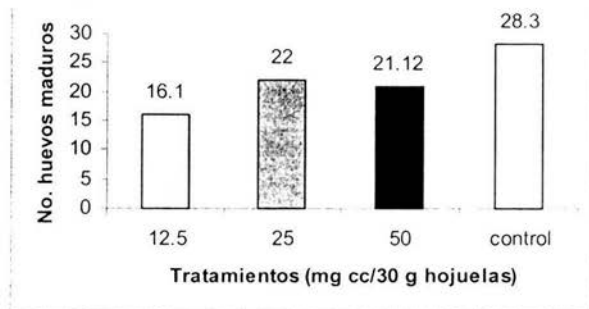


Figura 4. Número promedio de huevos maduros por tratamiento.

El número de huevos inmaduros para el control tuvo un promedio de 62.5 ($S = 25.26$), para la dosis de 12.5 mg de clomifeno se halló un promedio de 32.7 ($S = 18.8$), para la dosis de 25 mg de clomifeno se encontró un promedio de 50.83 ($S = 25.17$) y para la dosis 50 mg de clomifeno se encontró un promedio de 40.625 ($S = 23.45$) (Fig. 5). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), aunque el grupo control evidentemente presentó un mayor número de huevos inmaduros.

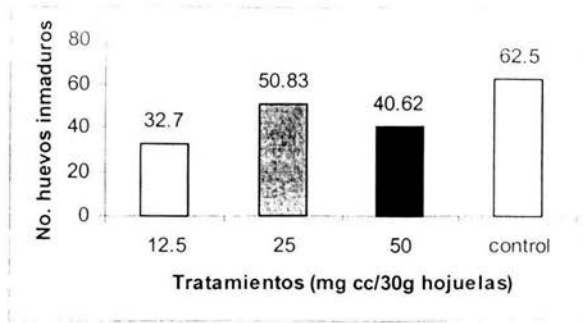


Figura 5. Número promedio de huevos inmaduros por tratamiento.

El porcentaje promedio de los embriones para el grupo control le correspondió un valor de 9.91%, para la dosis de 12.5 mg de cc se encontró un valor de 22.59%, para la dosis de 25 mg de cc se encontró un valor de 12.82% y la dosis de 50 mg de cc le correspondió un valor de 13.48% (Fig. 6). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), aunque el de mayor porcentaje evidentemente, fue el presentado en el grupo experimental de 12.5 mg de cc.

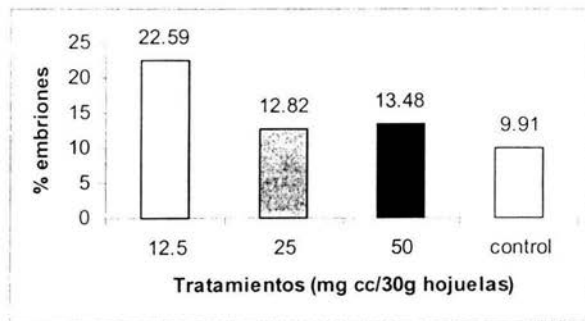


Figura 6. Porcentajes promedio de embriones por tratamiento.

En la presente investigación se encontró que en cada una de las concentraciones experimentales del cc un porcentaje de los ovarios de las hembras poseían entre los embriones algunos en los que en un solo huevo tenían dos embriones, fenómeno al que nombramos “gemelismo” y que el porcentaje para el caso de la concentración de 12.5 mg de cc fue del 10%, para la dosis de 25 mg de cc fue de 16% y para la dosis de 50 mg de cc se encontró un porcentaje del 25% (Fig. 7). El grupo experimental al que se le aplicó 50

mg de cc fue el que presentó el mayor porcentaje de aparición de dichos embriones "gemelos" y cabe destacar que en el grupo control no se presentó dicho fenómeno.

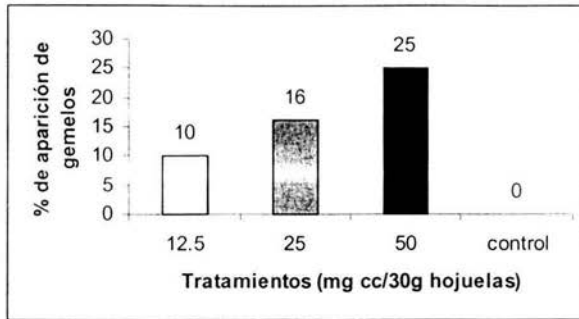


Figura 7. Porcentajes de hembras donde aparecieron "gemelos" para los distintos tratamientos.

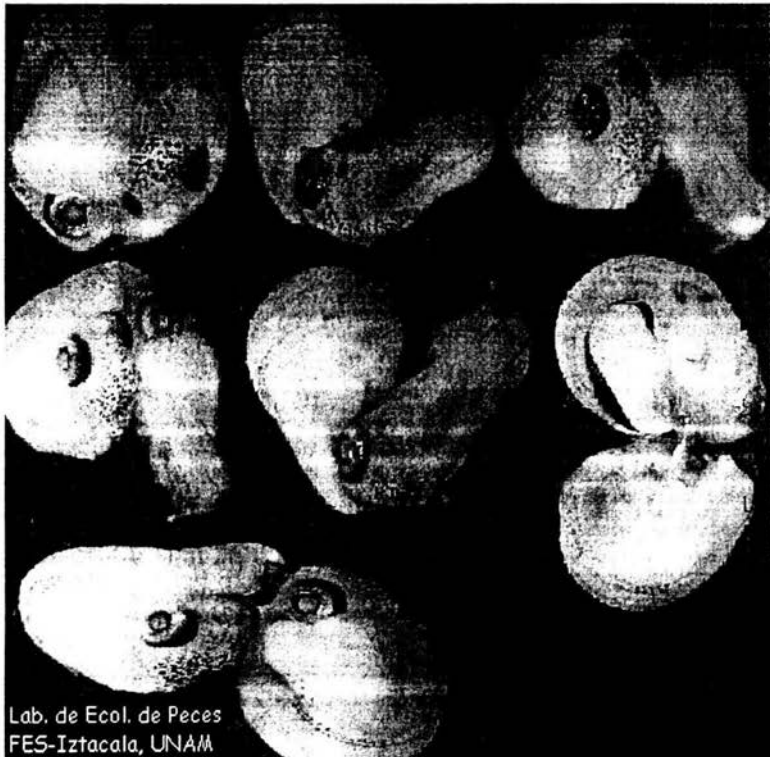


Figura 8. Disección de uno de los "gemelos" de esta investigación.

Para el grupo control se encontró un porcentaje de huevos maduros de 27.14%, en la dosis de 12.5 mg de cc se encontró un porcentaje de 28.28%, en la dosis de 25 mg de cc se ubico en un porcentaje del 27.15% y para la dosis de 50 mg de cc se encontró un porcentaje del 31.05% (Fig. 9). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) aunque el grupo experimental al que se le aplicó 50 mg de cc fue el que presentó el mayor porcentaje de huevos maduros.

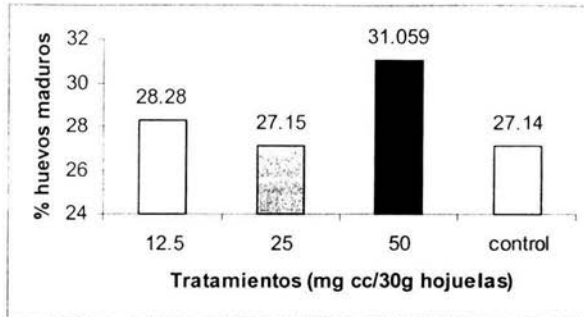


Figura 9. Porcentajes de huevos maduros para los distintos tratamientos.

Para el grupo control se encontró un porcentaje de huevos inmaduros de 59.19%, para la dosis de 12.5 mg de cc se encontró un porcentaje de huevos inmaduros del 49.11%, en la dosis de 25 mg de cc se reporto un porcentaje de los huevos inmaduros del 60.01% y en la dosis de 50 mg de cc se encontró un porcentaje de huevos inmaduros de 55.45% (Fig. 10). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) aunque el grupo al que se le aplicó 25 mg de cc fue el que tuvo el mayor porcentaje.

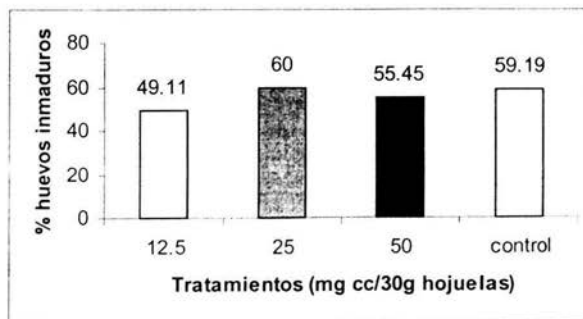


Figura 10. Porcentajes de huevos inmaduros para los tratamientos.

Para el caso de los diámetros promedio de los embriones del grupo control se determinó una media de 1.907 mm ($S = 0.72$), para la dosis de 12.5 mg de cc el promedio de los diámetros de embrión fue de 1.945 mm ($S = 0.107$), en la dosis de 25 mg de cc el promedio de los diámetros de los embriones fue de 2.17 mm ($S = 0.348$) y para la dosis de 50 mg de cc la media fue de 2.036 mm ($S = 0.273$) (Figura 11). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) aunque el mayor diámetro promedio de los embriones observables lo presentó el grupo experimental de 25 mg de cc.

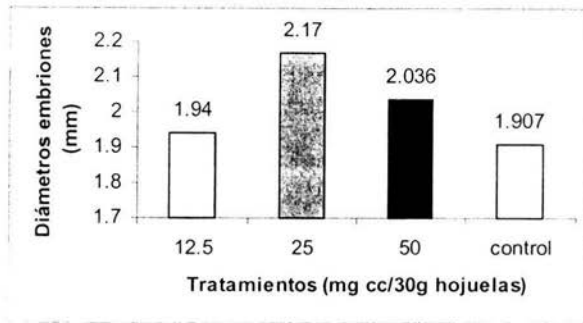


Figura 11. Diámetros promedio de los embriones para los distintos tratamientos.

Para el caso de los diámetros promedio de los huevos maduros del grupo control se observó una media de 1.38 mm ($S = 0.536$), en la dosis de 12.5 mg de cc se encontró un valor promedio de los huevos maduros de 1.799 mm ($S = 0.125$), para la dosis de 25 mg de cc se encontró una media de 1.493 mm ($S = 0.283$) y para la dosis de 50 mg de cc se encontró un promedio de 1.618 mm ($S = 0.284$) (Fig. 12). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) aunque el mayor diámetro promedio de los huevos maduros observados lo presentó el grupo experimental de 12.5 mg de cc.

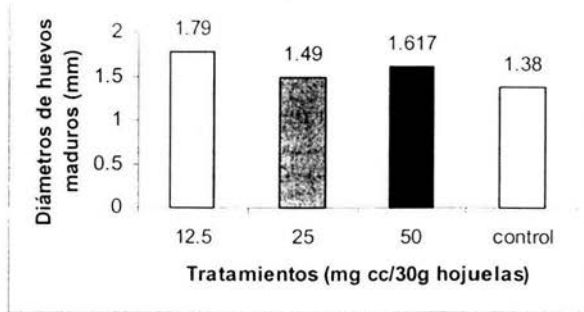


Figura 12. Diámetros promedio de los huevos maduros para los distintos tratamientos.

Para el caso de los diámetros promedio de los huevos inmaduros del grupo control se observó una media de 0.324 mm ($S = 0.104$), en la dosis de 12.5 mg de cc se encontró un promedio de 0.309 mm ($S = 0.04$), en la dosis de 25 mg de cc se encontró una media de 0.372 mm ($S = 0.095$) y para la dosis de 50 mg de cc se encontró un promedio de 0.3969 mm ($S = 0.047$) (Fig. 13). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), por lo que el mayor diámetro promedio de huevos inmaduros lo presentó el grupo de 50 mg de cc.

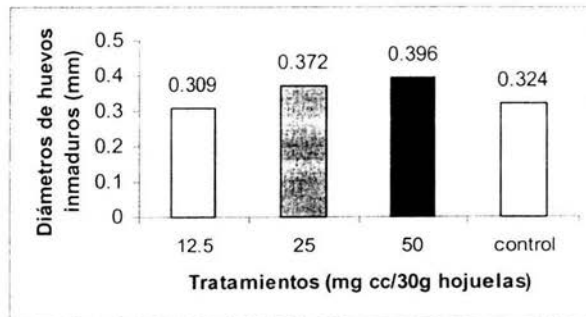


Figura 13. Diámetros promedio de los huevos inmaduros para los distintos tratamientos.

Con respecto al peso promedio de la gónada, el grupo control presentó el mayor peso con 0.0788g ($S = 0.0337$), el segundo lugar lo presentó la dosis de 12.5 mg con 0.0746g ($S = 0.0199$), el tercero lo tiene la dosis de 50 mg con 0.074g ($S = 0.033$) y el cuarto la dosis de 25 mg con 0.0635g ($S = 0.0388$)

(Fig. 14). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

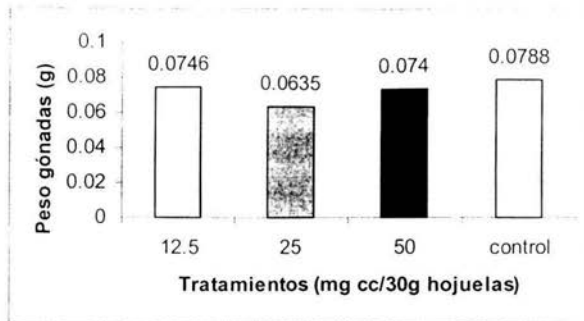


Figura 14. Pesos promedio de las gónadas para los distintos tratamientos.

Para el promedio del índice gonadosomático (IGS) se encontró que la dosis de 50 mg presentó el mayor valor con 14.94 ($S = 4.35$), el grupo experimental de dosis de 12.5 mg presentó un valor de 14.3 ($S = 4.87$), la tercera posición la tuvo el grupo control con 14.25 ($S = 5.14$) y el cuarto lugar lo ocupó la dosis de 25 mg con una media de 12.33 ($S = 6.37$) (Fig. 15). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

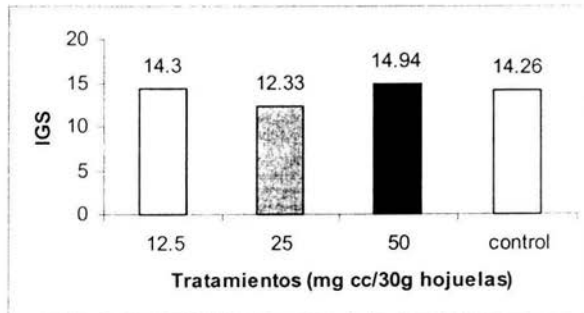


Figura 15. Índices gonadosomáticos promedio para los distintos tratamientos.

Respecto al peso promedio que presentaron los hígados en los distintos tratamientos tenemos que el grupo control presentó el peso mayor con 0.0132g ($S = 0.0057$), el segundo el grupo de la dosis de 12.5 mg con 0.0114g ($S = 0.0046$), el tercero el grupo de 50 mg con 0.0091g ($S = 0.003$) y el cuarto

lugar la dosis de 25 mg con 0.0086g (S = 0.0028) (Fig. 16). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

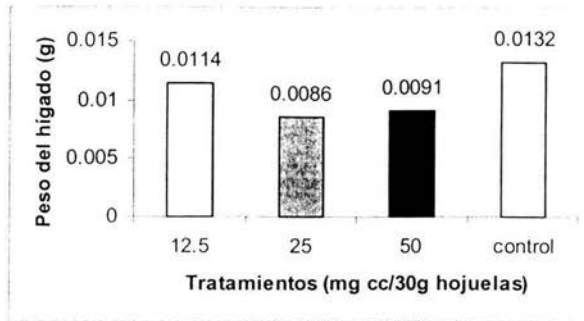


Figura 16. Pesos promedio de los hígados para los distintos tratamientos.

Con referencia al índice hepatosomático (IHS) encontramos que el control presentó un valor promedio de 2.49 (S = 0.87) siendo el valor promedio mayor, el segundo lugar lo presentó la dosis de 12.5 mg con un valor de 2.09 (S = 0.76), el tercer lugar lo presentó la dosis de 50 mg con un 1.89 (S = 0.503) y el último fue la dosis de 25 mg con 1.86 (S = 0.797) (Fig. 17). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

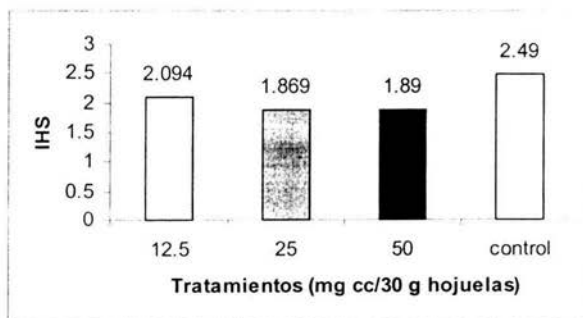


Figura 17. Índices hepatosomáticos promedio para los distintos tratamientos.

CRECIMIENTO EN LONGITUD

Para determinar el crecimiento de los organismos de los diferentes tratamientos experimentales, se obtuvieron los modelos del crecimiento exponencial en longitud y se determinó que todos los grupos experimentales presentaron un crecimiento exponencial positivo (Fig. 18). El grupo control presentó el siguiente modelo (Fig. 18a):

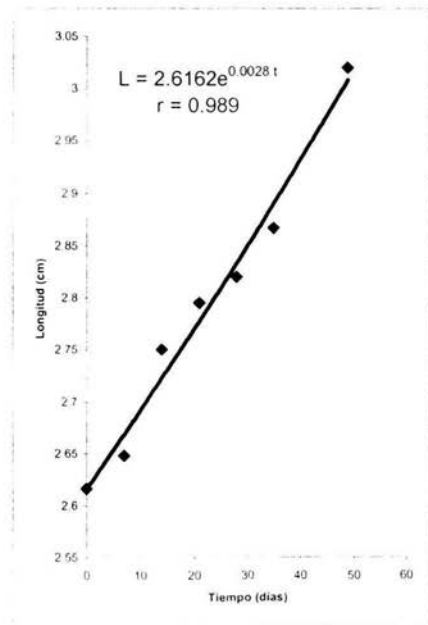
$$L = 2.6162e^{0.0028 t}$$

$$r = 0.989$$

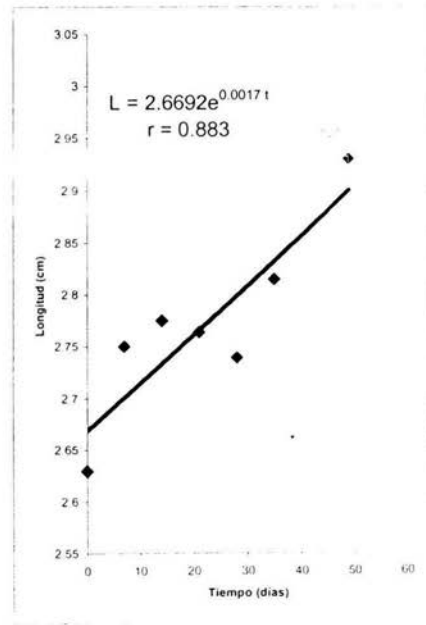
El siguiente modelo representó el crecimiento de los peces del tratamiento con 12.5 mg de cc/30 g hojuelas (Fig. 18b):

$$L = 2.6692e^{0.0017 t}$$

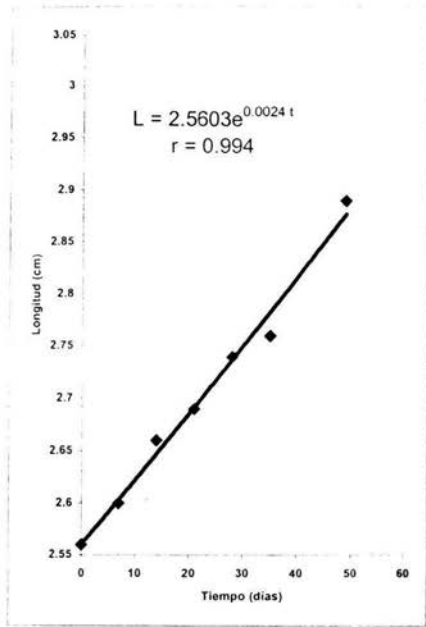
$$r = 0.883$$



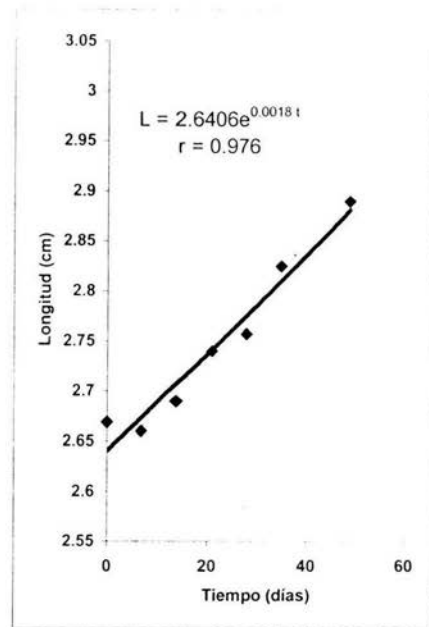
a



b



c



d

Figura 18. Crecimiento exponencial en longitud de hembras de *Poecilia reticulata* para cada una de las concentraciones de cc en 30 g de hojuelas, a) organismos control, b) concentración 12.5 mg, c) concentración 25 mg y d) concentración 50 mg.

Los organismos a los que se trató con 25 mg de cc/30 g hojuelas, presentaron el siguiente modelo (Fig. 18c):

$$L = 2.5603e^{0.0024 t}$$

$$r = 0.994$$

Por último a los organismos a los cuales se les trató con 50 mg de cc/30 g de hojuelas presentaron el modelo de crecimiento (Fig. 18d):

$$L = 2.6406e^{0.0018 t}$$

$$r = 0.976$$

Al comparar las tasas de crecimiento para los tres grupos experimentales respecto al control, se observó que es el grupo que presentó el más rápido crecimiento (0.0028), seguidos por el grupo de 25 mg de cc (0.0024), el de 50 mg (0.0018) y el de 12.5 mg (0.0017) (Tabla 1).

Tabla 1. Tasa de crecimiento en longitud a través del tiempo para cada una de las concentraciones de cc en 30 g de hojuelas, así como el coeficiente de correlación.

Concentración de cc en 30 g de hojuelas	Tasa de crecimiento	Coefficiente de correlación
Control	0.0028	0.989
12.5	0.0017	0.883
25	0.0024	0.994
50	0.0018	0.976

No existieron diferencias significativas entre dichos grupos ($p < 0.05$).

Referente al crecimiento relativo se observó que el control tuvo el mayor crecimiento, seguido de la dosis de 25 mg, la de 12.5 mg y la de 50 mg. Para el incremento diario en longitud, se mostró la misma tendencia, siendo el control el grupo que presentó mayor crecimiento (Tabla 2).

Tabla 2. Crecimiento relativo e incremento diario en longitud registrados para las hembras de guppy durante la experimentación.

Concentración de cc en 30 g de hojuelas	Crecimiento relativo (%)	Incremento diario en longitud (cm/día)
Control	15.39	0.0067
12.5	11.4	0.005
25	12.89	0.0055
50	8.28	0.0036

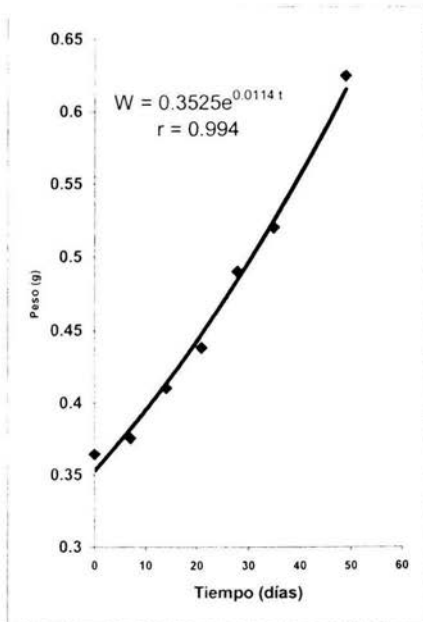
CRECIMIENTO EN PESO

En lo concerniente al crecimiento en peso, para los diferentes tratamientos se obtuvieron los siguientes modelos que representaron su crecimiento exponencial, para el grupo control fue (Fig. 19a):

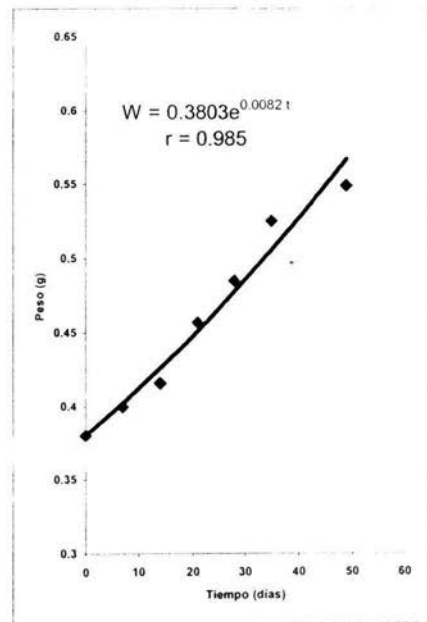
$$W = 0.3525e^{0.0114 t}$$
$$r = 0.994$$

Para el grupo de 12.5 mg de cc/30 g de hojuelas, el modelo de crecimiento exponencial en peso fue de (Fig. 19b):

$$W = 0.3803e^{0.0082 t}$$
$$r = 0.985$$



a



b

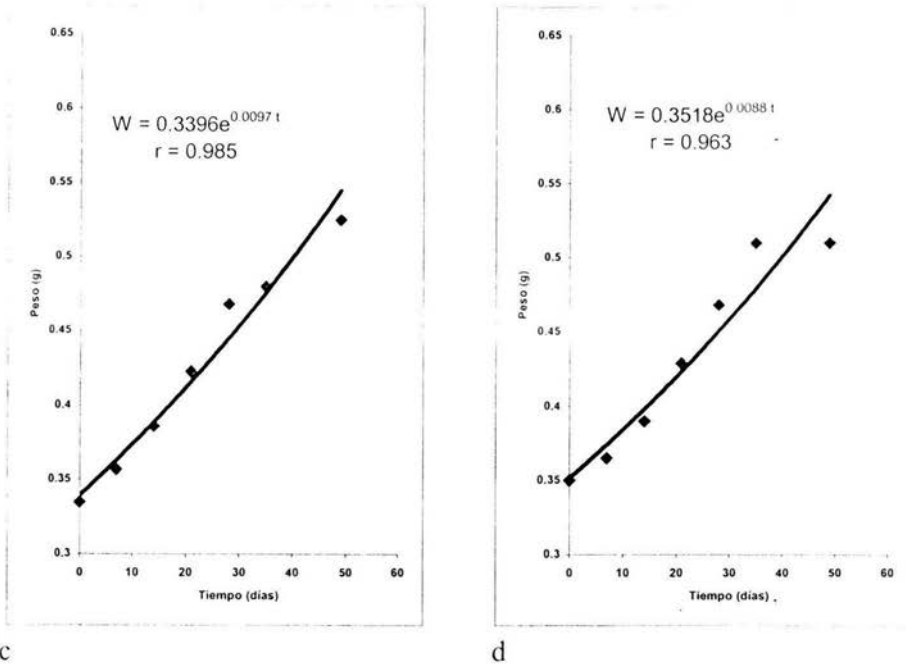


Figura 19. Crecimiento exponencial en peso de hembras de *P. reticulata* para cada una de las concentraciones de cc en 30 g de hojuelas. a) grupo control, b) 12.5 mg, c) 25 mg y d) 50 mg.

En el caso del grupo al que se le aplicaron 25 mg de cc/30 g hojuelas, su modelo de crecimiento en peso fue de (Fig. 19c):

$$W = 0.3396e^{0.0097t}$$

$$r = 0.985$$

A los organismos a los que se les aplicaron 50 mg de cc/30 g de hojuelas, presentaron el siguiente modelo de crecimiento (Fig. 19d):

$$W = 0.3518e^{0.0088t}$$

$$r = 0.963$$

Al comparar los diferentes grupos experimentales, se observó que la mayor tasa de crecimiento en peso la presentó el grupo control (0.0114), seguida de

la dosis de 25 mg (0.0097), la de 50 mg (0.0088) y la de 12.5 mg (0.0082) (Tabla 3).

Tabla 3. Tasa de crecimiento en peso a través del tiempo para cada una de las concentraciones de cc.

Concentración de cc en 30g de hojuelas	Tasa de crecimiento	Coefficiente de correlación
Control	0.0114	0.994
12.5 mg	0.0082	0.985
25 mg	0.0097	0.985
50 mg	0.0088	0.963

No se encontraron diferencias significativas respecto al incremento en peso ($p < 0.05$).

Tanto el crecimiento relativo como el incremento diario en peso se pueden ver en la tabla 4, que muestra que el control fue el que tuvo el mayor porcentaje de peso y de incremento por día.

Tabla 4. Crecimiento relativo e incremento diario en peso registrados para las hembras de *P. reticulata* durante la experimentación.

Concentración de cc en 30g de hojuelas	Crecimiento relativo (%)	Incremento diario en peso (g/día)
Control	71.7	0.00435
12.5	44.5	0.0028
25	56.7	0.0032
50	45.71	0.0026

RELACIÓN PESO-LONGITUD

Concerniente a la relación peso-longitud, para los organismos control se presentó el siguiente modelo (Fig. 20a):

$$W = 0.0082 L^{3.911}$$

$$r = 0.984$$

El modelo que representó la relación entre peso y longitud para los peces del tratamiento de 12.5 mg de cc fue (Fig. 20b):

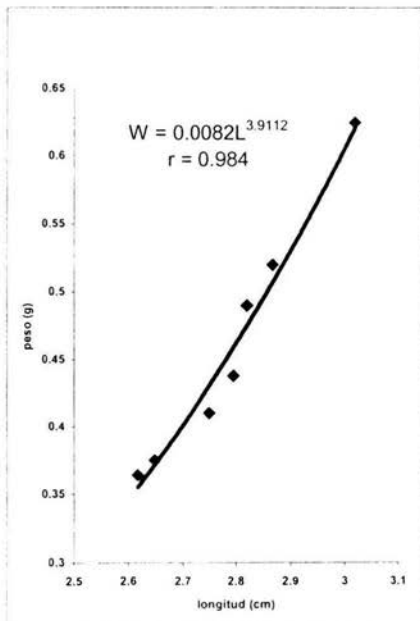
$$W = 0.0124 L^{3.535}$$
$$r = 0.826$$

Los organismos a los que se aplicó una concentración de 25 mg de cc presentaron el siguiente modelo para la relación peso-longitud (Fig. 20c):

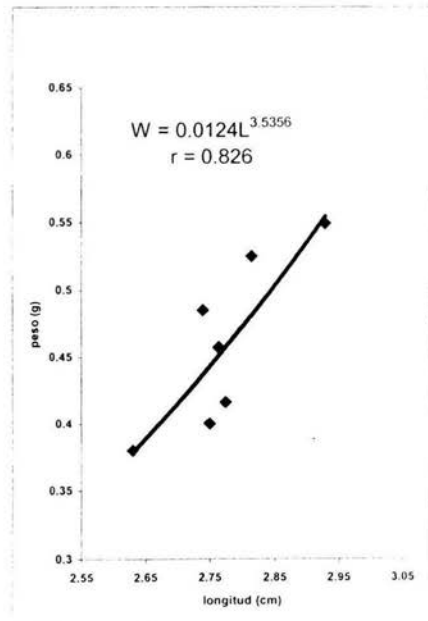
$$W = 0.0081 L^{3.98}$$
$$r = 0.974$$

El grupo de la concentración de 50 mg de cc, presentó el siguiente modelo para su relación peso-longitud (Fig. 20d):

$$W = 0.0035 L^{4.748}$$
$$r = 0.944$$



a



b

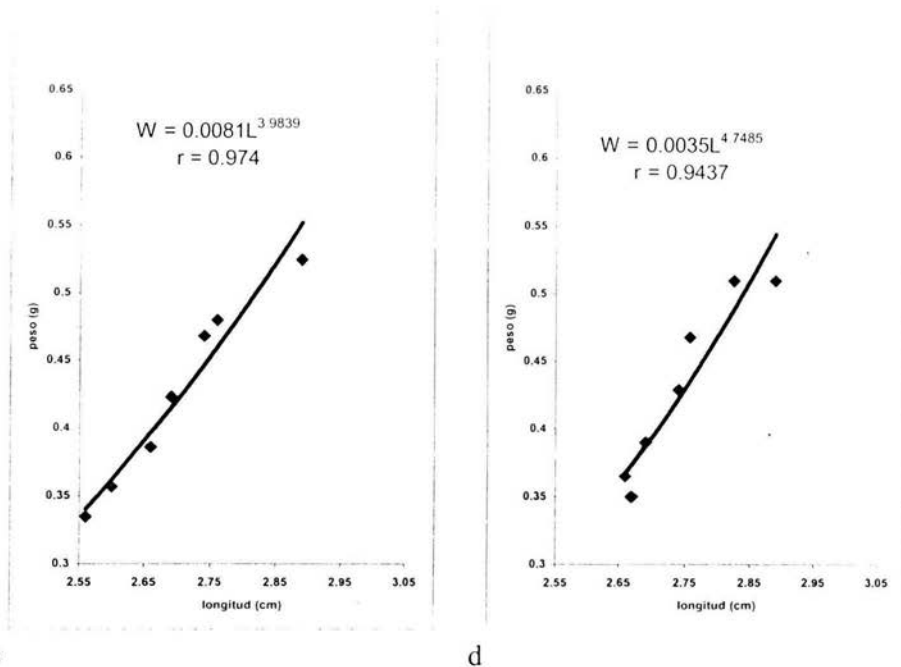


Figura 20. Relación Peso-Longitud de las hembras de *P. reticulata* para cada una de las concentraciones de cc en 30 g de hojuelas: a) grupo control, b) 12.5 mg, c) 25 mg y d) 50 mg.

Para todos los grupos experimentales se presentó un crecimiento de tipo alométrico ya que todas las pendientes de la relación peso-longitud fueron mayores que 3 (Tabla 5).

Tabla 5. Valor de pendiente y tipo de crecimiento obtenidas de la relación peso-longitud para cada concentración de cc en 30 g de hojuelas.

Concentración de cc en 30g de hojuelas	Pendiente	Tipo de crecimiento
Control	3.91	Alométrico
12.5	3.53	Alométrico
25	3.98	Alométrico
50	4.75	Alométrico

Respecto al factor de condición determinado por dicha relación se observó que el mayor lo presentó el grupo de 12.5 mg de cc (0.0124), le siguió el grupo control (0.0082), le siguió el grupo de 25 mg de cc (0.0081) y el último grupo fue el de 50 mg de cc que es el que presentó el más bajo factor de condición (0.0035). De acuerdo con la expresión propuesta por RICKER (1958 en RODRÍGUEZ, 1992) el factor de condición inicial y el final para cada lote experimental se presenta en la tabla 6.

Tabla 6. Factor de condición inicial y final, según la propuesta de RICKER (*op. cit.*) para cada uno de los tratamientos.

Concentración de cc en 30g de hojuelas	Factor de condición inicial	Factor de condición final
Control		0.0069
12.5 mg	0.0273	0.0121
25 mg		0.007
50 mg		0.003

Es notorio mediante esta tabla que todos los grupos mostraron una disminución con respecto al factor de condición inicial (FC_i) y que el grupo que se encontró en una mejor condición fisiológica al finalizar el experimento fue el grupo de la concentración 12.5 mg de cc, seguido por el 25 mg el control y el de 50 mg.

EFICIENCIA DE CONVERSIÓN DEL ALIMENTO

Se obtuvieron los valores de eficiencia de conversión del alimento para cada uno de los grupos experimentales:

$$ECA_{\text{control}} = 4.63\%$$

$$ECA_{12.5\text{mg}} = 3.28\%$$

$$ECA_{25\text{mg}} = 3.54\%$$

$$ECA_{50\text{mg}} = 2.88\%$$

Al comparar dichos valores de conversión se determinó que el grupo que mejor aprovechó el alimento fue el control (4.63%), seguido por el grupo de 25 mg de cc (3.54%), 12.5 mg de cc (3.28%) y 50 mg de cc (2.88%).

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

En la tabla 7 se observan los promedios y desviaciones estándar de los parámetros registrados durante el proyecto para cada grupo experimental.

Tabla 7. Promedios y desviaciones estándar registrados durante la experimentación.

	Temperatura (°C)	Oxígeno disuelto (g/l)	pH
Control	26.5	7.86	8.67
	1.56	1.89	0.075
12.5	26.8	7.46	8.76
	1.3	1.32	0.14
25	26.95	6.88	8.69
	1.08	1.07	0.11
50	26.8	7.26	8.68
	0.96	1.37	0.12

Con relación a la temperatura para cada grupo experimental, ésta se incrementó conforme avanzó el tiempo, sin embargo entre los cuatro grupos experimentales no existieron diferencias marcadas (Fig. 21).

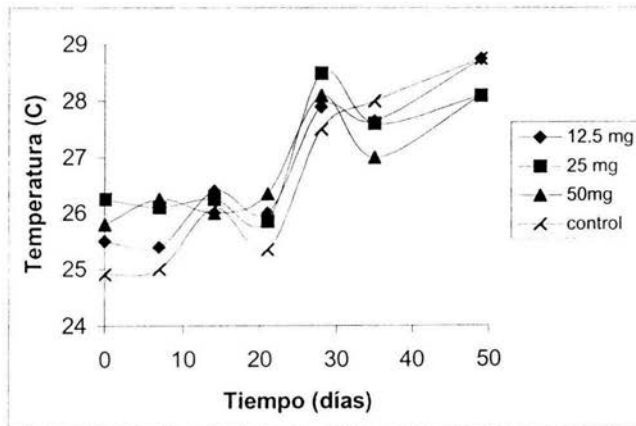


Figura 21. Temperaturas registradas para cada grupo durante el desarrollo experimental.

Referente al pH, se observó que existió una diferencia mínima entre tratamientos a lo largo de la experimentación, pues la máxima variación registrada fue de 0.25 (Fig. 22).

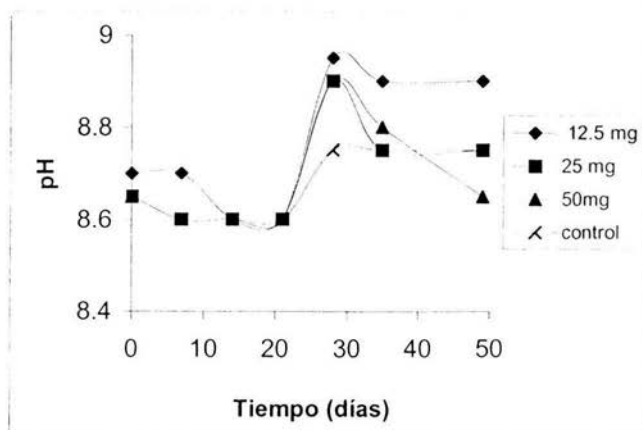


Figura 22. pH registrado para cada grupo durante el desarrollo experimental.

Relativo al oxígeno disuelto se encontró que hasta aproximadamente los 35 días este se mantenía estable y por encima de 7 ml/l, sin embargo, después de este tiempo sufrió una caída constante hasta registrar 5 ml/l, a pesar de ello, fueron aguas con suficiente oxígeno disuelto (Fig. 23).

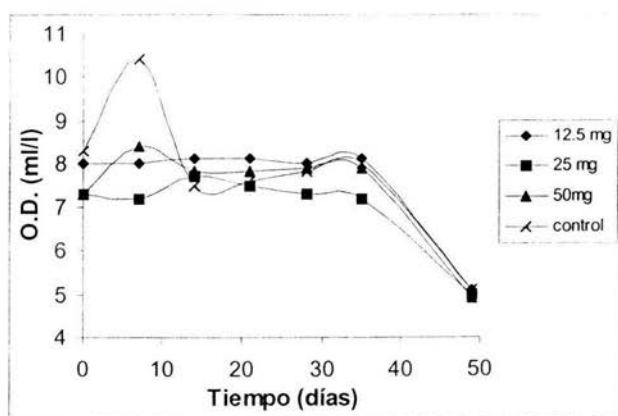


Figura 23. Oxígeno disuelto registrado para cada grupo durante el desarrollo experimental.

En la tabla 8 se observan para estos parámetros físicoquímicos el promedio, así como el máximo y el mínimo.

Tabla 8. Muestra el promedio, el máximo y el mínimo por parámetro y para cada tratamiento.

Tratamientos	Promedio y extremos	Temperatura (C)	pH	Oxígeno (ml/l)
Control	promedio	26.5	8.67	7.81
	máximo	28.75	8.75	10.4
	mínimo	24.9	8.6	5.1
12.5 mg cc	promedio	26.8	8.76	7.63
	máximo	28.75	8.95	8.1
	mínimo	25.4	8.6	5.1
25 mg cc	promedio	26.95	8.69	7.03
	máximo	28.5	8.9	7.7
	mínimo	25.85	8.6	5
50 mg cc	promedio	26.8	8.68	7.43
	máximo	28.1	8.9	8.4
	mínimo	25.8	8.6	5



DISCUSIÓN

El grupo control fue el que presentó la mayor fecundidad (total de embriones, huevos maduros y huevos inmaduros), presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a los tratamientos experimentales, por lo que, el objetivo que se buscaba como lo era determinar si el citrato de clomifeno promovía un aumento de la cantidad de óvulos producidos por hembra de guppy, basado en que el uso de dicho medicamento puede producir aumento en la ovulación y nacimientos múltiples en línea humana (Guía profesional de medicamentos, 1993; GRIFFITH, 1993), no se evidenció, ya que ningún grupo experimental lo presentó. El segundo objetivo estaba condicionado a una respuesta positiva del primer objetivo, como lo era el determinar la concentración óptima para lograr una superovulación viable, (un aumento en la cantidad total de embriones, huevos maduros e inmaduros, respecto al control) tampoco se comprobó a causa de que se presentó una disminución neta en la fecundidad, en lugar del aumento esperado para los grupos experimentales con referencia al grupo control, pero se encontraron otros efectos hasta ahora no reportados. IZT.

En la mayoría de los estudios en que el cc fue empleado, se ha aplicado a peces ovíparos y mediante inyección intraperitoneal, como en el experimento de PANDEY y HOAR (1972) sobre el pez dorado (*Carassius auratus*) en dos dosis de 1 y 10 μg de cc/g de pez, encontrando que ambas dosis fueron efectivas en la inducción de la ovulación en éste pez a los cuatro días y cuando las hembras estuvieron totalmente grávidas, obteniendo del desarrollo de los huevos desovados después de fertilizarlos, alevines normales. Las diferencias entre esta investigación con la presente, fueron evidentes y las principales radicarón en la forma de la aplicación del cc (inyección vs. vía oral), al tipo de reproducción de los peces (ovípara vs. ovovivípara) y a la concentración usada, ya que la dosis mínima empleada fue de 12.5 μg de cc día/g de pez, una intermedia de 25 μg de cc día/g de pez y la máxima fue de 50 μg de cc día/g, es decir, se utilizaron en este experimento dosis, por lo menos de 100 a 200 veces más altas y quizá motivaron un efecto contrario al postulado.

Por su parte CHANG *et al.* (1992), experimentaron el uso del cc, así como sus isómeros (cis-clomifeno y trans-clomifeno) y LHRH-a en la estimulación a la ovulación en el ayu (*Plecoglossus altivelis*), encontrando que el cis-clomifeno y el cc estimularon la ovulación y que ambos fueron más efectivos

en dosis altas (20 mg/kg de pez) que en bajas (2 mg/kg de pez), obteniendo efectos estimulatorios similares al LHRH-a y superiores al control. Para la presente experimentación se calcularon las siguientes dosis de cc por kg de pez: para la concentración de 12.5 mg se usarían 12.5 mg de cc día/kg de pez, para la de 25 mg se utilizarían 25 mg de cc día/kg de pez y para la concentración de 50 mg se usarían 50 mg de cc día/kg de pez. Lo cual comprobó, que en el presente proyecto se empleo una sobredosis del cc, ya que en el ayu se empleó una dosis máxima de 20 mg de cc/kg, pero en una sola ocasión y las dosis experimentadas durante el presente trabajo fueron aplicadas cada día durante el tiempo que duró el experimento y son por ello muy altas.

Respecto a las experimentaciones de ÁVILA *et al.* (1997) y CRUZ *et al.* (1997), ambos trabajaron la inducción a la ovulación de la "naca" *Dormitator maculatus*, empleando la concentración de un mg de cc por cada 100 g de hojuelas, y como ya se dijo, aquí se emplearon dosis de 12.5, 25 y 50 mg de cc en 30 g de hojuelas, por lo que la dosis utilizada en la presente investigación es mucho mayor a la de ellos, por lo que esto pudo tener un efecto contraproducente a los objetivos planteados, a causa de una sobredosis.

Es difícil hacer una comparación con dichos estudios, debido a que el resultado que ellos esperaban como efecto de la aplicación del clomifeno era la ovulación, a causa de la liberación de gonadotropinas hipofisarias y en ambos casos fue exitosa y no un aumentó en la fecundidad del pez como resultado de la aplicación del fármaco, como se planteó en este trabajo, esto puede explicarse en virtud de que en las hembras guppys la ovulación no se lleva a cabo como en peces con reproducción ovípara, en que los óvulos después de pasar por una etapa previtelogénica y una vitelogénica, al final de esta última, por un pico hormonal en los niveles de gonadotropinas en plasma se da la maduración final del óvulo, consistente en la migración de la vesícula germinal de la región central del óvulo hacia el extremo del mismo (hacia el polo animal), con la consecuente terminación de la meiosis y unas horas después con la liberación de los óvulos del folículo ovárico y su salida al ambiente por el gonoducto para su fertilización (PATIÑO y REDDING, 2000). Por su parte en los organismos ovovivíparos hay también una etapa de vitelogénesis, durante la cual el diámetro del ovocito se incrementa y el folículo deposita vesículas de vitelo dentro de cada ovocito, el ovocito maduro es esférico, dorado amarillo translucido, contiene glóbulos periféricos de grasa, y esta cubierto por una delgada membrana vitelina, y a diferencia de los ovíparos, MEFFE y SNELSON (1989) mencionan que en los guppys, cada

oogonia esta rodeada de pequeñas células epiteliales que forman un folículo ovárico, y los embriones se desarrollan dentro de éstos folículos. AMOROSO (1960 citado en MEFFE y SNELSON *op. cit.*) menciona que la ovulación inmediatamente precede al parto, de lo que se asume que el término ovulación en este caso, se entiende como la maduración final del ovocito, sin la liberación ovárica del mismo.

En éste sentido, es notorio mediante el análisis de los resultados de la fecundidad que a causa de la administración del cc hubo una respuesta por parte del ovario, la cual fue una inducción a la maduración, determinada por la mayor cantidad de huevos maduros y embriones con respecto al grupo control y como afirman MEFFE y SNELSON (*op. cit.*) presentando esta especie un ciclo regular de producción de huevos, en el que el parto ocurre antes de que los huevos más jóvenes sean fertilizados, por lo que estas hembras cargan embriones en un solo estadio de desarrollo embrionario, es lógico el pensar que el cc promovió la maduración de una mayor cantidad de huevos, que en su momento fueron fertilizados y fueron los embriones contados en los grupos experimentales, y al mismo tiempo que se desarrollaban, por acción del cc se promovió la maduración de la siguiente generación de huevos, siendo éstos los huevos maduros encontrados en la hembras experimentales, y que también están presentes en mayor número en dichos grupos que en el grupo control. Es decir a nivel "ovulatorio" el uso de cc sí mostró en *P. reticulata* un aumento en la maduración, con respecto al control. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$), pero fue evidente el efecto de la maduración de los huevos y desarrollo embrionario entre las hembras de los grupos experimentales con respecto al control, comprobable además de un incremento en el número, tamaño y porcentaje de estos estadios.

El grupo control presentó el mayor peso en la gónada (0.0788g), aunque respecto a los grupos experimentales la diferencia es mínima. Respecto al peso del hígado (0.0132g), presentó el mayor peso, como también el IHS (2.49), lo cual es entendible, pues como afirma RODRÍGUEZ (1992), dicho índice es la relación existente entre el peso del hígado y el peso del ejemplar, y esta relación, es específica para hembras ya que el hígado es el encargado de la secreción de vitelogeninas durante la vitelogénesis exógena que son captadas por el óvulo en desarrollo, y es por esto, que es directamente proporcional al ciclo reproductivo y decae justamente antes del desove y como en el caso de este grupo fue el que tuvo gran parte de sus huevos inmaduros. En el ámbito morfológico, algunos hígados en todos los grupos, incluido el control presentaron anomalías, esto tendrá que ser revisado, ya que CRUZ *et al.* (1997)

y ÁVILA *et al.* (1997), en su trabajo con *Dormitator maculatus*, cuantificaron histológicamente daños en el hígado, en el presente trabajo no se realizó dicha técnica, pero se efectuó revisión macroscópica de color, forma y textura de hígados, existiendo evidencias entre los “sanos” que se encontraron en todos los grupos, en comparación con algunos hígados sanguinolentos, sin forma y textura normal presentes en todos los grupos. Definitivamente, esto deberá ser comprobado mediante técnicas específicas que evalúen esta situación, en el contexto de que existen otras investigaciones que por exceso de administración de fármacos (vitaminas) han reportado daño en el hígado específicamente (NGUYEN, 2002).

En el grupo experimental de dosis de 12.5 mg de cc, se presentó el segundo lugar en peso gonádico, hígado, IGS e IHS. Mostró la menor fecundidad del experimento y no obstante, fue el que presentó la mayor cantidad de embriones promedio y el mayor porcentaje de los mismos (22.59 %), también ostentó la menor cantidad promedio y porcentaje de huevos inmaduros en el experimento. Este grupo presentó el tercer lugar en diámetro de embriones y el menor de huevos inmaduros. Aparentemente, el cc tuvo un efecto sobre las gónadas en dirección a una reducción en el número promedio y porcentual de huevos inmaduros, dejando este porcentaje cercano al 50% de inmaduros, presentó también el mayor diámetro promedio de huevos maduros y favoreció un mayor desarrollo de la madurez de los huevos que llevaron al mayor número promedio y porcentual de dichos embriones. No obstante, a pesar de que entre los datos y observaciones existieron diferencias marcadas en estos aspectos, matemáticamente no se presentaron diferencias significativas respecto a los restantes grupos.

El grupo experimental de dosis de 25 mg de cc presentó una fecundidad inferior al control, el mayor porcentaje de huevos inmaduros (60), los diámetros de los embriones más grandes (2.17 mm) y el segundo lugar respecto al número promedio de éstos últimos, de los huevos maduros y de los huevos inmaduros. Este grupo también es el que presentó el menor peso de la gónada, IGS, peso de hígado e IHS.

El grupo experimental de la dosis de 50 mg de cc presentó el mayor porcentaje de huevos maduros (31.06) que tienen el segundo mayor diámetro, el segundo lugar en porcentaje y diámetro de embriones y huevos maduros, tiene el mayor diámetro de huevos inmaduros, así como, el segundo valor del IGS.

El efecto del cc fue negativo comparado con el control respecto a la fecundidad, ya que esta disminuyó en los grupos experimentales, encontrándose diferencias significativas a este respecto. Por otra parte, se observó que el cc tuvo un efecto sobre la madurez gonádica, la cual fue más rápida, ya que se encontró en todos los grupos experimentales un mayor porcentaje de huevos maduros y embriones que en el control, aunque no fue estadísticamente significativa..

Es de destacar que donde se administró el cc se pudo observar el fenómeno de “gemelos” (definido como en un mismo huevo la presencia de dos peces independientes) en los tres tratamientos experimentales (12.5, 25 y 50 mg de cc), para el tratamiento de 12.5 mg de cc únicamente se presentó dicho fenómeno en un 10 % de la población, para el tratamiento de 25 mg de cc se presentó en un 16 % y para la dosis de 50 mg de cc se presentó en 25 %, sobresaliendo el hecho de que en una sola hembra se presentaron dos huevos con gemelos cada uno en esta concentración. Aparentemente, existió una relación proporcional entre la cantidad de “gemelos” y la cantidad de cc utilizado y podría deberse como resultado de la administración de cc, pues según las contraindicaciones presentadas por la Guía profesional de medicamentos (1993), se puede dar por el uso del fármaco en línea humana el caso de nacimientos múltiples, a pesar de ello, no existe información donde se reporte esta situación en peces, ni tampoco por conocimiento alguno con otros investigadores (com. pers. Dra. Ma. Carmen URIBE-ARRIOZABAL, Fac. de Ciencias; GRIER, H. J. y BROWN-PETERSON, N. de The University of Southern Mississippi) y solo se ha presentado en *X. helleri* (CRUZ *et al.*, 2002).

Para el crecimiento en longitud, se obtuvieron tasas de crecimiento muy bajas, de las cuales la mayor fue la del grupo control, lo cual mostró que pese a que los organismos crecieron en longitud, este crecimiento fue muy lento y que la energía fue utilizada básicamente en la reproducción. Respecto al incremento diario en longitud, el control fue el grupo que presentó el mayor incremento con 0.0067 cm/día, que comparado con el trabajo de GARCÍA (2001) en el cual cabe destacar el hecho de que los guppys fueron colocados en jaulas de 54x27x31 cm lo que da un volumen aproximado de los 40 litros que hay en una pecera, las cuales a su vez fueron colocadas en estanquería con aguas tratadas en Xochimilco, en una proporción de 9 hembras por 3 machos. La alimentación fue natural con lo que estaba disponible en los estanques, éstas crecieron diario en longitud 0.014 cm/día, lo cual mostró que en el caso de la presente experimentación, el máximo incremento diario en longitud fue de poco menos de la mitad que el presentado en la experimentación de GARCÍA

(*op. cit.*). Estos resultados evidenciaron que los peces utilizados en la presente investigación fueron adultos, ya que la velocidad de crecimiento en longitud fue muy baja, concordando a lo que dice RICKER (1975), donde los peces disminuyen su crecimiento en longitud (a valores de casi cero) cuando alcanzan su madurez, por lo cual se comprueba que el efecto negativo del cc en cuanto a un aumento en la fecundidad, no es debido a que se usaron en la experimentación peces inmaduros. Para el crecimiento en peso, también se presentaron tasas de crecimiento lentas, donde el control volvió a ser el grupo que presentó el mayor crecimiento en peso. En lo relativo al incremento diario en peso, el control tuvo el mayor valor registrado en la experimentación con 0.0043 g/día, que en comparación con el trabajo de GARCÍA (*op. cit.*), en el que las hembras presentaron un incremento diario en peso de 0.008 g/día, hace evidente que el mayor crecimiento en peso fue de casi la mitad en la presente experimentación. Además es obvio que dicho aumento en peso está en relación directa con la reproducción.

Con relación al factor de condición inicial (F_{c_i}), se comparó el obtenido al inicio del experimento (0.0273), ya que se mantuvieron todas las hembras en las mismas condiciones con muy similares longitudes y como se ve en la sección de resultados, al terminó de la experimentación éstos valores se vieron disminuidos, de todos los grupos el que mayor factor de condición presentó fue al que se le aplicaron 12.5 mg de cc (0.0121), el segundo mejor factor de condición lo presentó el grupo al que se le aplicaron 25 mg de cc (0.007), el tercero al control (0.0069) y el cuarto al que se le aplicaron 50 mg de cc (0.003). De lo que se deduce que el mayor grado de bienestar guardando relación con el cambio de corpulencia lo tuvo la dosis de 12.5 mg, la dosis de 25 mg, el control y 50 mg, en ese orden, lo que explica esta disminución es que dicho factor esta basado en la relación que guarda la longitud con el peso y como se pudo observar en los modelos de crecimiento, la longitud se mantiene casi constante, aumentando el peso a causa de que estaban grávidas, lo que da un tipo de crecimiento alométrico. Respecto al trabajo de GARCÍA (*op. cit.*), todos los grupos del presente proyecto se mantuvieron en un mayor grado de bienestar, ya que para su experimentación en Xochimilco, se encontró un factor de condición de 1×10^{-6} , estando éste muy por debajo al de la presente investigación, de lo que se entiende que en el presente experimento, hubo un mayor grado de bienestar en los peces.

La eficiencia de conversión del alimento, relaciona la eficacia de conversión del alimento en ganancia de peso corporal en cierto periodo de tiempo, mostraron que la más eficiente conversión de alimento a biomasa de

pez la presentó el grupo control. Lo que significó que a un mayor porcentaje de eficiencia, indicó un mejor aprovechamiento del alimento, y para los grupos experimentales un menor porcentaje de eficiencia, nos indicó que aprovecharon más ineficazmente todo lo que se les proporcionó y por lo tanto, la concentración que teóricamente se les administraba, no fue totalmente consumida, por lo que se podría suponer que tal vez el cc influyó en el consumo del alimento por los peces, y es posible con esto que la vía oral a través del alimento no fuese la más adecuada para su administración y ello el valor mostrado por el mayor valor de crecimiento en longitud y peso corporal, peso de gónada, hígado, e IHS que se presentaron en los peces del grupo control con respecto a los grupos con dosis de clomifeno.

Referente a los factores físicoquímicos a los que se mantuvieron los peces, la temperatura, su rango de preferencia según CHAUMETON *et al.* (1991) va de 20 a 30°C. DZIKOWSKI *et al.* (2001), demostraron que la temperatura óptima para la reproducción que identificaron en su estudio con dos variedades de guppys, están entre 26 y 27° C. Intervalo de temperatura que se encuentra muy cercano al mantenido a lo largo de la presente experimentación, por lo cual la temperatura no fue un factor que modificará el efecto del cc.

Respecto al oxígeno disuelto, WHEATON (1982) afirma que los organismos acuáticos están maravillosamente bien adaptados para extraer oxígeno en bajas concentraciones del agua. Las concentraciones de oxígeno de entre 3 y 5 ml/l permitirán sobrevivir a algunos peces indefinidamente y pueden ser toleradas por otras especies durante cortos periodos y por arriba de 5 ml/l casi todos los organismos acuáticos pueden sobrevivir indefinidamente y siendo de 5 ml/l la concentración mínima de oxígeno por lo cual, se asume que este parámetro no incidió en los resultados de la presente experimentación.

Relativo al pH CHAUMETON *et al.* (*op. cit.*), afirma que los guppys, en su biotopo natural, se encuentran en aguas ligeramente alcalinas, llegando incluso a frecuentar estuarios, en que el valor de dicho parámetro físicoquímico es alto, de ahí que puede asumirse que este factor no afectó los resultados de este experimento.

Aparentemente el uso del cc acelera la maduración de los óvulos, más que producir un aumento en la fecundidad del guppy, incluso podría probarse la administración del mismo mediante bioencapsulación en *Artemia*, para

determinar si se siguen observando los mismos resultados que en este trabajo o la respuesta es diferente, por otra parte, el uso de este fármaco debe ser probado en otras especies para ver si tiene un efecto en la mejora de las respuestas reproductivas de los peces, específicamente, en ovovivíparos y vivíparos podrían hacerse trabajos referentes al tamaño de las puestas y periodo entre ellas bajo el efecto del cc, esto es en la fertilidad de las especies, y apreciar si hay un efecto en un mayor número de embriones respecto al control como se observó en ésta experimentación. También debe hacerse en peces de ornato ovíparos, pues como ya se observó en los pocos casos en que este se aplicó tuvo por respuesta la ovulación obteniendo efectos estimulatorios similares al LHRH-a y superiores al control (CHANG *et al.*, 1992), sin embargo, con la enorme ventaja de un precio mucho más bajo en el caso del cc, ya que su precio en farmacias es de \$30 por caja, la cual contiene 10 pastillas de 50 mg de cc c/u, por lo que el precio de 50 mg de cc es de unos \$3, mientras que los análogos como el utilizado por CHANG *et al.* (*op. cit.*), tienen una cotización en dólares, por ejemplo, el mg de [D-Trp⁶]- LH-RH, cuesta unos US\$38.90 o los 500 µg de des-Gly10, [D-His (Bzl)6]- LH-RH Ethylamide, cuestan US\$51.50 (Sigma Biochemicals and Regents for Life Science Research).

Queda por hacer mucha investigación respecto al uso de este tipo de medicamentos, los cuales son baratos y fáciles de administrar en peces pequeños como lo son generalmente las especies de ornato, y pueden desarrollar un gran potencial para la industria de la acuicultura de ornato, que como indican SHIREMAN y HILDEA (1989), para la industria acuacultural de Florida cuyo centro es la producción de peces de ornato, los cuales generaban en 1986 US\$ 105 millones anualmente, y solo satisfacían parte de la demanda de peces de ornato en los E.U.A. y que peces con un valor de 500 millones eran importados anualmente. Lo anterior muestra el tremendo potencial de esta industria y su necesidad d investigación para lograr mayores producciones de dichos peces, y es en este sentido en que la investigación queda abierta para los medicamentos anovulatorios como el usado en esta investigación.

CONCLUSIONES

- 1) Las concentraciones usadas del cc en esta investigación no promovieron un aumento de la cantidad de óvulos producidos por hembra de guppy.
- 2) Si bien no incrementó la fecundidad, todas las concentraciones presentaron una mayor cantidad de embriones y huevos maduros, así como los mayores diámetros de estos elementos.
- 3) El uso de cc en la alimentación de las hembras de guppy trae consigo el fenómeno de “gemelos”, aparentemente con relación a la dosis usada, entre mayor sea ésta, se presenta una mayor cantidad de gemelos con cerca del 25% de frecuencia en la población.

LITERATURA CITADA

- ADASHI, E. Y. 1984. Clomiphene citrate: mechanism(s) and site(s) of action—a hypothesis revisited. Fertility and Sterility, 42(3): 331-344.
- ALOK, D.; TALWAR, G. P. y GARG, L. C. 1999. *In vivo* activity of salmon gonadotropin releasing hormone (GnRH), its agonists with structural modifications at positions 6 and 9, mammalian GnRH agonista and native cGnRH-II on the spawning of an Indian catfish. Aquaculture International 7: 383-392.
- ALVAREZ, G. A. L.; ESPINOZA, D. E. A.; MARTÍNEZ, C. L.; ACEVEDO, C. A.; ARZOLA, N. J.; CASTILLO, G. X.; GUERRERO, L. L. I.; HERNÁNDEZ, P. S.; INFANTE, B. M. T.; RODRÍGUEZ, R. N.; YÉPEZ, D. E.; CRUZ, G. A. y RODRÍGUEZ, V. A. 1996. Efecto del citrato de clomifeno para estimular la reproducción en peces de ornato. Utilización y aprovechamiento de la Ictiofauna nativa de los sistemas costeros del Estado de Veracruz. Memorias del XX Simposio de Biología de Campo, UNAM, Campus Iztacala, p. 43.
- ALVARIÑO, J. M. R.; ZANUY, S.; PRAT, F.; CARRILLO, M. y MAÑANOS, E. 1992. Stimulation of ovulation and steroid secretion by LHRHa injection in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of time of day. Aquaculture, 102: 177-186.
- ÁVILA, M. F.; BONILLA, M. R.; HERNÁNDEZ, C. E.; ROBLES, M. G.; VALENCIA, P. B.; BARRAGÁN, G. C.; BARRÓN, L. Y.; CASTAÑEDA, H. F.; CORBELLO, G. S.; FALFÁN, V. E.; JUÁREZ, B. M.; LÓPEZ, M. B.; NIÑO, S. R.; PÉREZ, R. G.; RAMÍREZ, C. S.; REDING, P. A.; SALAS, H. J.; SÁNCHEZ, A. R.; SÁNCHEZ, A. M.; SOTO, B. R.; RODRÍGUEZ, V. A. y CRUZ, G. A. 1997. Inducción a la ovulación de *Dormitator maculatus*. Memorias del XXI Simposio de Biología de Campo, UNAM, Campus Iztacala, p. 45.
- AXELROD, H. R. 1994. Crianza de los peces de acuario. Editorial Hispano Europea, Barcelona, España, pp. 128
- BURTON, S.; KAISER, H. y HECHT, T. 1998. The potential of Artemia-mediated delivery of a gonadotropin-releasing hormone analogue to induce ovulation in the cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*). Aquarium Sciences and Conservation, 2: 89-92.

- CEBALLOS-OROZCO, R. G. 1996. Efecto de la reserpina en la ovogénesis de carpa común (*Cyprinus carpio*). Tesis de Licenciatura (Biología), ENEP Iztacala, UNAM. México, pp. 44.
- CHANG, C. F.; HU, H. J.; TANG, H. C. y SUN, T. T. 1992. Stimulation of ovulation in ayu, *Plecoglossus altivelis*, by treatment with antiestrogens and luteinizing hormone-releasing analog. Aquaculture, 101: 329-336.
- CHAUMETON, H.; BREITENSTEIN, A.; SÉRUSIER, P. y EUJELVIN, P. 1991. Guía de los peces de acuario. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España. pp. 382.
- CIFUENTES, L. J. L.; TORRES, G. P. y FRIAS, M. M. 1997. El océano y sus recursos IX Acuicultura. Segunda edición. La ciencia para todos. Secretaría de Educación Pública, Fondo de Cultura Económica y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. pp. 160.
- CRUZ, G. A.; RODRÍGUEZ, V. A.; ÁVILA, M. F.; ROBLES, M. G. y HERNÁNDEZ, C. E. 1997. Estudio histológico de la gónada de *Dormitator maculatus* tratada con inductor de ovulación. Memorias del XIV Congreso Nacional de Zoología, p. 31.
- CRUZ, G. A.; RODRÍGUEZ, V. A. y PICAZO, P. E. 2002. Fecundity models for *Poecilia sphenops* and *Xiphophorus helleri* in captivity. Memorias del II International Symposium on livebearing fishes, Querétaro, Qro. México, p. 21.
- DANIEL, W. W. 1996. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 3ª edición. Editorial LIMUSA, Grupo Noriega Editores. México, D. F. pp. 878.
- Diario Oficial de la Federación. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies de flora y fauna silvestres de México-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo.
- DÍAZ-PARDO, E. y SOTO-GALERA, E. 2001. Estado, uso y conservación de los peces nativos. Memorias del 5º encuentro nacional de Acuariofilia y acuicultura de ornato. Páginas 24-26.

- DZIKOWSKI, R., HULATA, G., KARPLUS, I. y HARPAZ, S. 2001. Effect of temperature and dietary L-carnitine supplementation on reproductive performance of female guppy (*Poecilia reticulata*). Aquaculture 199: 323-332.
- EDDY, S. y UNDERHILL, J. C. 1982. How to know the freshwater fishes. Third Edition. The Pictured Key Nature Series. Wm. C. Brown Company Publishers Dubuque, Iowa, USA. pp. 215.
- FERMÍN, A. C. 1991. LHRH-a and domperidone-induced oocyte maturation and ovulation in bighead carp, *Aristichthys nobilis* (Richardson). Aquaculture 93: 87-94.
- GARCIA, B. D. 2001. Evaluación del crecimiento de tres especies de poecílicos (*Poecilia reticulata*, *Poecilia sphenops* y *Xiphophorus helleri*) y determinación de la producción de crías en estanquería con aguas tratadas. Tesis de Licenciatura (Biología), Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM. México 75 p.
- GOETZ, F. W. 1993. Involvement of protein kinase C in agonist-stimulated goldfish ovulation. Biology of Reproduction, 48: 846-850.
- Guía Profesional de Medicamentos. 1993. Manual Moderno.
- HADDY, J. A. y PANKHURST, N. W. 2000. The efficacy of exogenous hormones in stimulating changes in plasma steroids and ovulation in wild black bream *Acanthopagrus butcheri* is improved by treatment at capture. Aquaculture 191: 351-366.
- HAMMAN, R. L. 1985. Induced spawning of hatchery-reared bonytail. Prog. Fish-Cult. 47(4): 239-241.
- HARMIN, S. A. y CRIM, L. W. 1992. Gonadotropic hormone-releasing hormone analog (GnRH-A) induced ovulation and spawning in female winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). Aquaculture, 104: 375-390.

- HEPHER. 1993. Nutrición de peces comerciales en estanques. Ed. Limusa, México.
- MEFFE, G. K. y SNELSON, Jr. F. F. 1989. Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae). Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, pp. 453.
- MUGNIER, C.; GUENOC, M.; LEBEGUE, E.; FOSTIER, A. y BRETON, B. 2000. Induction and synchronisation of spawning in cultivated turbot (*Scophthalmus maximus* L) broodstock by implantation of a sustained-release GnRH-a pellet. Aquaculture, 181: 241-255.
- NGUYEN, A. T. 2002. Growth and hepatic lesions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B1. Aquaculture 212: 311-319
- PANDEY, S. y HOAR, W. S. 1972. Induction of ovulation in goldfish by clomiphene citrate. Can. J. Zool., 50: 1679-1680.
- PANDEY, S., STACEY, N. y HOAR, W. S. 1973. Mode of action of clomiphene citrate in inducing ovulation of goldfish. Can. J. Zool., 51: 1315-1316.
- PATIÑO, R. y REDDING, J. M. 2000. Microscopic Funcional Anatomy: Chapter Reproductive Systems. Academic Press, USA. pp. 489-500.
- PETROVICK; LIBUSE; KNOTEK y PATRICK. 1990. La gran enciclopedia de acuario. Susaeta, Checoslovaquia.
- RAMÍREZ-PÉREZ, T. 1997. Reproducción y desarrollo embrionario del pez ángel (Pterophyllum scalare Heckel, 1890) en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura (Biología), Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM. México 117p.
- RICKER, W. E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Department of the Environment Fisheries and Marine Service, Bulletin 191, 382 p.
- RODRÍGUEZ, G. M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. AGT Editor, S. A. pp. 79

- RUELAS-PEÑA, J. H. 1995. Inversión sexual en *Tilapia mossambica* Jordan y Everman (1890), mediante el uso de hormonas. Oceanología, 4(8): 51-59.
- SANDFÖRD, G. 1996. Peces de acuario. Una guía completa de peces exóticos de agua dulce y de agua de mar. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. pp. 256.
- SCHLÖTZ, A. y DAHLSTRÖM, P. 1977. Los peces de acuario. Identificación-cuidado-cría. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España, pp. 223
- SEMMENS, K. J. 1985. Induced spawning of the blue sucker (*Cycleptus elongates*). Prog. Fish-Cult, 47(2): 119-120.
- SHIREMAN, J. V. y GILDEA, J. A. 1989. Induced spawning of rainbow sharks (*Labeo erythurus*) y redtail black sharks (*L. bicolor*). The Progressive Fish-Culturist, 51: 104-108.
- TORRES-OROZCO, B., R. 1991. Los peces de México. AGT Editor, S.A. México, pp. 235.
- VERNOCCHI, R y RODRÍGUEZ, B. J. C. 1996. Inducción de ovulación y sus complicaciones. Archivos de Ginecología y Obstetricia. Vol. 34(1): 1-6.
- WHEATON, F. W. 1982. Acuicultura Diseño y Construcción de Sistemas. AGT Editor, S.A. México, p. 123.
- YAMAZAKI, F. y DONALDSON, E. M. 1968. The effects of partially purified salmon pituitary gonadotropin on spermatogenesis, vitellogenesis, and ovulation in hypophysectomized goldfish (*Carassius auratus*). Gen. Comp. Endocrinol. 11: 292-299.

Direcciones electrónicas:

- <http://www.science.nus.../fish/guppy/guppy.html>
- [www. sigmaaldrich.com/](http://www.sigmaaldrich.com/)