



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA.**

USO DE LA HORMONA 17  $\beta$ -ESTRADIOL  
PARA LA INDUCCIÓN SEXUAL EN CRÍAS DE PECES GUPPYS  
*Poecilia reticulata* (POECILIIDAE).

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGO**

PRESENTA:

**OSCAR PINEDA CHÁVEZ.**

DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. ALBA F. MARQUEZ ESPINOZA

LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MÉXICO 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.*

*Esta tesis la dedico a las 3 mujeres más importantes de mi vida.*

*A mi madre, Lulú: por cada uno de los esfuerzos sobrehumanos que realizo para sacarnos adelante, tratando de hacernos mejores personas cada nuevo día, por sus sacrificios, pero ante todo por el amor incondicional, inmutable e interminable que nos regala, infinitas gracias mamá, gracias por darme la vida.*

*A mi hermana, Lucero: por acompañarme y enseñarme a compartir todo, por aguantarme y quererme tanto, además de haber estado siempre ofreciéndome tu apoyo y dándome la fuerza para seguir adelante, en los momentos más difíciles de mi vida gracias Lolina.*

*A Karina: por que gracias a todos los sentimientos y emociones que has provocado en mí, este trabajo empezó y concluyó, pero sobre todo por enseñarme lo que es y se significa el amor, gracias, te amo por todo y para siempre.*

## **AGRADECIMIENTOS.**

Agradezco a DIOS por cada uno de los maravillosos regalos que ha traído a mí vida y por la vida misma.

A mi papá: Alberto Pineda Bautista, un gran hombre, que siempre me ha dado su apoyo, su ánimo, confianza y su amor a un a pesar de la distancia, gracias Pá.

A la M. en C. Alba F. Márquez Espinoza, no solo por sus enseñanzas, apoyo y confianza, también por su amistad y paciencia para poder aguantarme tanto tiempo, y así culminar este trabajo, gracias, Alba.

Quiero agradecer especialmente al M. en C. Mario A. Fernández Araiza por sus observaciones, comentarios, correcciones y tiempo dedicado, que no solo me ayudaron para mejorar este trabajo, también enfocaron mi atención hacia la importancia que tiene el pensar como un profesionista de la carrera de Biología.

A mis sinodales: M. en C. Rodolfo Cárdenas Reygadas, Biol. Jorge Gersenowies Rodríguez y Biol. José Antonio Martínez Pérez, por sus correcciones, comentarios y apoyo, que contribuyeron a enriquecer mi trabajo.

Agradezco a todos mis profesores de la carrera, por que gracias a su pasión y entrega, lograron despertar en mi el amor hacia mi bella y maravillosa profesión, Biología.

Quiero darle las gracias al Lic. Filiberto Herrera, por la oportunidad y la confianza que mostró hacia mi persona.

A todos mis amigos y compañeros, por los momentos de alegría y por que siempre estuvieron cerca de mi animándome y apoyándome sinceramente, gracias, Andrea, Lalo, Bernardo, Marco, Hugo, Valentín, Octavio, Rigomualdo, Ana, Edgar (payaso), Manuel y los juanos, Carmen, Eu, Sarajuana, Andrés, Jena, Mireya, Elisa, Mariana, Alina, Lupilla y Víctor, Toñin, Erika Badillo, Kika Ramos, Edgarín, Panchito, Karina, Grisel y yo se que son muchas las personas que me conocen y se consideran mis amigos y que tal ves omití sin querer, pero sinceras gracias a todos ustedes por compartir conmigo esto.



## ÍNDICE.

	Página.
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTECEDENTES.....	6
OBJETIVOS.....	10
METODOLOGÍA.....	11
OBTENCIÓN DE LOS ORGANISMOS.....	11
PREPARACIÓN DE ALIMENTO Y TRATAMIENTO EXPERIMENTAL.....	12
TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	13
RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN Y ANÁLISIS.....	24
CONCLUSIONES.....	37
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	38
BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.....	42
ANEXOS.....	44

## RESUMEN.

Los peces están representados por aproximadamente 25,000 especies y su importancia para el hombre se puede dividir en dos tendencias generales, como fuente de alimento ya que proporcionan una gran parte de las proteínas de la dieta y como organismos ornamentales que son una importante fuente de ingresos, además de ser una buena terapia contra el estrés. Actualmente algunas investigaciones, se han encaminado al mejoramiento de las especies ornamentales, a través del uso de sustancias químicas como las hormonas sexuales, adicionadas al alimento. En este trabajo se observan los efectos de la hormona 17  $\beta$ -estradiol en concentraciones de 15 y 10 mg/kg sobre crías de guppy (*Poecilia reticulata*) con 10 días de nacidos, durante un periodo de tratamiento de 45 días. Registrándose la respuesta a través de la expresión de los caracteres sexuales secundarios como color, aparición de gonopodio y desarrollo de aleta caudal; además de llevarse a cabo la toma de datos sobre el comportamiento de los caracteres biológicos longitud total, longitud de aleta caudal, peso y determinación de la relación peso-longitud. Los resultados arrojados al final de este trabajo muestran una relación directamente proporcional entre las dosis y el efecto sobre los organismos. La dosis de 15 mg/kg, es la que causa más efecto, pues muestra diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) de crecimiento de la longitud total, longitud de aleta caudal y peso en comparación con la dosis de 10 mg/kg y el control. Por otro lado el factor de condición (**a**) es mayor en la dosis de 10 mg/kg comparada con la de 15 mg/kg y el control. La relación peso-longitud (**n**) es anisométrica en 10 mg/kg e isométrica en 15 mg/kg y el control. Finalmente, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) para ninguna de las dosis, sobre la inducción sexual de los organismos ya que la proporción sexual en todos los casos es de 1:1, lo que sugiere un efecto nulo de la hormona sobre la obtención de una población monosexo.

## INTRODUCCION

Los peces representan aproximadamente la mitad del total de los vertebrados modernos conocidos. Los científicos reconocen un número total estimado de 25,000 especies vivas. La importancia que se le ha dado a los peces puede dividirse en dos distintas tendencias como fuente de alimento para el consumo humano, ya que son una gran fuente de proteínas; y para ornamentación (Mills, 1991). Los peces ornamentales son aquellos que por su morfología y colorido son atractivos y utilizados como mascotas, además que se ha comprobado que en muchas ocasiones pueden ser benéficos en terapias psicológicas para aliviar algunos síntomas del estrés. (Mills, 2000).

La Acuicultura, es la práctica del cultivo de peces, mediante el empleo de métodos y técnicas para su desarrollo controlado, en todo estadio biológico, ambiente acuático y en cualquier tipo de instalación. Esta práctica se remonta a las más antiguas culturas como la China, Griega y Japonesa, donde las actividades e instalaciones acuaculturales se encuentran documentadas en antiguas obras de arte y literatura. (Márquez, 1999)

Actualmente, ésta actividad se lleva acabo de alguna forma en casi todos los países del mundo. Se considera que la acuicultura es una industria en crecimiento y que su desarrollo ha alcanzado, en algunos países niveles muy elevados como es el caso de China, que tiene la mayor producción mundial destinada al consumo humano; Japón que cultiva una gran variedad de especies acuáticas, no sólo para satisfacer la demanda de alimento, sino para la producción de peces de ornato (Whealton, 1982) y Singapur que para darnos una idea del beneficio económico que esta actividad puede aportar, en el año de 1995, exportó a más de 50 países un total de 500 especies ornamentales incluyendo ovíparas y vivíparas, por un valor de aproximadamente 84 millones de dólares. ( Piferrer y Chuan-Lin, 1997). Sin embargo, en el caso de nuestro país el desarrollo del cultivo de peces de ornato, aún no logra tener gran relevancia, ni se le ha dado una promoción importante, pese a que México cuenta naturalmente con algunas especies de importancia ornamental, tanto marinas, como de agua dulce (Fuentes, 1998).



A pesar de esto, lo estético de las especies, el gusto de las personas por la actividad, así como el reto que produce el poder mantener un organismo exótico dentro de un ambiente artificial, ha logrado atraer la atención a muchos investigadores y entusiastas, lo que produce una demanda hacia estos organismos y a la especialización de las técnicas de manutención, crecimiento, reproducción, patrones de coloración, genética sexual y obtención de poblaciones monosexo, que son características importantes para que las especies tengan una buena demanda por parte de las personas que se dedican a la actividad acuariofílica.

Algunas investigaciones, en el ámbito mundial, están encaminadas al mejoramiento de estas especies ornamentales, ya que hasta el momento la gran mayoría de los organismos y sobretodo los marinos, son extraídos de su hábitat, teniendo como consecuencia disminución en las poblaciones naturales. (Márquez, 1999).

De estas investigaciones, actualmente se resalta el uso de las hormonas como la *17 $\alpha$ -metiltestosterona* para inducir a la masculinización, así como el *17 $\beta$ -estradiol* para la feminización, principalmente en aquellos organismos donde el desarrollo y dimorfismo sexual es muy notable, como es el caso de algunos miembros de la familia *POECILIIDAE*. Ya que se ha observado que el proceso de diferenciación sexual es diverso en los peces, haciendo que la inducción sexual mediante el uso de hormonas sea posible, debido a que el esteroide sexual es el primero en inducir algunas características como la diferenciación de la gónada, gametogénesis, ovulación, conductas de cortejo, modificación de los caracteres sexuales secundarios, cambios morfológicos y fisiológicos, entre otras. (Márquez, 1999).

La expresión del sexo en peces se lleva a cabo por medio de dos procesos el primero, la determinación sexual; que usualmente se establece en el momento de la fertilización por la combinación en el nuevo cigoto de los genes determinantes del sexo que son aportados por los cromosomas paternos y maternos; y segundo

por la diferenciación sexual, del aún indeterminado primordio dentro de las gónadas masculinas o femeninas en desarrollo. Comparados con otros vertebrados, el fenotipo de los peces es fácil de alterar gracias a su "flexibilidad" sexual, haciendo posible la existencia de peces con un fenotipo sexual diferente a su genotipo a través de la inducción sexual. Esta ventaja de los peces es explotada en acuicultura, para obtener machos o hembras específicamente de acuerdo con las características y necesidades requeridas. (Piferrer y Chuan-Lin, 1997).

Así, algunos de los procesos que se pueden observar en la gónada muestran que la diferenciación sexual es inducible y como consecuencia las características externas se desarrollan por acción de ésta, lo que indica que la determinación del sexo se activa en el momento de desarrollo de la misma, pudiéndose determinar fisiológicamente y no por la acción total de los genes. (Fuentes, 1998).

Comúnmente a las prácticas de manipulación de la expresión sexual en la acuicultura se les conoce como técnicas de control del sexo, y dependen de la acción, sobre alguno de los procesos ya mencionados (determinación y diferenciación), para el primero se refiere a técnicas genéticas y en el segundo técnicas hormonales; este último es el más utilizado para la obtención de poblaciones monosexo en organismos ornamentales. (Piferrer y Chuan-Lin, 1997).

En la acuicultura las hormonas más utilizadas son los esteroides sexuales especialmente los andrógenos, ya que en algunas especies de peces, los machos se desarrollan más rápido que las hembras y en el caso de los ornamentales los machos suelen ser mas coloridos y atractivos para el mercado, lo que justifica el mayor uso de los andrógenos para la obtención de poblaciones monosexo. (Márquez,1999).

En cuanto a los estrógenos, éstos promueven la inducción sexual hacia poblaciones de hembras, que aún que no son tan llamativas, en comparación con los machos, representan una importancia comercial, ya que algunos de los consumidores se inclinan hacia la reproducción y cuidado de los neonatos debido

al reto que estos representan y a la dificultad que trae consigo su mantenimiento. Sin embargo, el uso de estas hormonas, sobre todo en lo que se refiere al aspecto de los efectos que causan en la obtención de poblaciones monosexo y las reacciones de los organismos ante la dosificación, no se han descrito con tanto énfasis, debido a que en la mayoría de los trabajos se enfocan como ya se menciona a la masculinización de los organismos ( Piferrer y Chuan-Lin, 1997).

Por otra parte, es importante conocer las distintas maneras en que las hormonas se aplican a los organismos. Entre las vías de administración de estas sustancias, se pueden mencionar la adición de la hormona en el alimento, que se popularizó con la aparición de los esteroides sintéticos, que contienen radicales etilo, metilo y propinato entre otros, lo que le confiere a la sustancia mayor estabilidad, ya que evitan la degradación al pasar por el tracto digestivo. La revisión realizada por Hunter y Donalson (1983), indica claramente que los tratamientos endocrinos a través de la dieta son los más utilizados en la administración de esteroides en especies de aguas frías que reportan un 90% de efectividad. (Marquez,1999).

Lo anterior resalta la importancia del uso de estas hormonas para la obtención de más información, que arroje datos sobre los efectos de las sustancias en los organismos, para conocerlas y aplicarlas prudentemente obteniendo resultados que puedan beneficiar a su comercialización y así ampliar el conjunto de conocimientos relevantes sobre éste tipo de trabajos de investigación.

## ANTECEDENTES.

Algunos de los trabajos en los que se han utilizado hormonas sexuales para llevar a cabo una inducción sexual y observar los efectos causados sobre los peces son: el realizado por Gannam y Lovell (1991), en el que se utilizó 17  $\alpha$ -metilttestosterona y 17  $\beta$ -estradiol en la dieta de bagres *Ictalurus punctatus*, a diferentes concentraciones (5, 8, 32 y 50 mg/kg). Obteniendo un incremento en peso del 14% con respecto a los controles.

Gomelsky *et al.* (1994), por su parte, induce reversión sexual para obtener poblaciones monosexo en *Cyprinus carpio*. tratándolas durante 40 días con dosis de 100 ppm de metilttestosterona, obteniendo de un 46.7% a 96.6% de machos en los tanques con sistema de recirculación y 20.0% a 43.8% de los mismos, en los tanques con agua de corriente continua.

Santandreu y Diaz, (1994), realizan un estudio sobre el efecto anabólico de la hormona 17  $\alpha$ -metilttestosterona, sobre el salmón *Oncorhynchus masou* aplicando dosis de 0.1, 1.0, 3.0 y 7.0 mg/kg adicionadas al alimento y obteniendo buenos resultados en cuanto al desarrollo y crecimiento del pez.

Pandian y Sheela (1995), por su parte llevaron a cabo una revisión muy completa sobre la inducción sexual, reportando que la intensidad del tratamiento aumenta en algunas familias como CICHLIDAE < CYPRINODONDIDAE < ANABANTIDAE < POECILIIDAE < SALMONIDAE < CYPRINIDAE. Utilizando 16 andrógenos y 15 estrógenos, de los cuales resaltan las hormonas 17  $\alpha$ -metilttestosterona y 17  $\beta$ -estradiol, ambos esteroides naturales; obteniendo de 95-100% de inducción con las dosis de 200 y 300 mg/kg adicionadas al alimento.

Melard (1995), aplica 17  $\alpha$ -etinilestradiol a *Oreochromis aureos* en el alimento con dosis de 100, 150 y 200 mg/kg y obtiene porcentajes del 94%, 93% y 98% de hembras en la población respectivamente, en comparación con 53% de hembras del grupo control.

Salam y Ronald (1997), al trabajar con *Promoxis nigromaculatus* aplican 17  $\alpha$ -metilttestosterona en peces con 40 y 60 días de nacidos y obtienen una mejor inducción para machos con la dosis de 60 mg/kg en el alimento sobre los organismos de 40 días y afirman que el efecto esta directamente relacionado, más que con la talla con la edad de los individuos.

Continuando con los trabajos, podemos citar los llevados a cabo en especies de la familia POECILIIDAE. Lim *et al.* (1992), quien investigó los efectos de dos hormonas la 17  $\alpha$ -metilttestosterona y la 17  $\beta$ -estradiol, en el crecimiento y diferenciación sexual en juveniles de *Xiphophorus helleri* variedad roja. Las hormonas, se incorporaron al alimento en dosis de 50, 100, 200, 300, 500, y 700 mg/gr peso pez. Los organismos consumieron este alimento durante diez días, resultando que las dosis más altas inhiben el funcionamiento de la gónada y reportan que son efectivas en la determinación sexual secundaria. Con las dosis de 500 y 700 de MT se presenta el 100% de masculinización, el tamaño de los peces fue de 2.0 a 3.05 mm, y en el caso del 17  $\beta$ -estradiol con dosis de 500 y 700 se obtuvo un 100% de feminización.

Márquez *et al.* (1994), reportan la obtención de poblaciones monosexo con el uso de diversas dosis que van desde 5.0 hasta los 12.5 mg/kg de 17  $\alpha$ -metilttestosterona adicionada en alimento, usando crías recién nacidas y hembras preñadas de *Poecilia reticulata*, *Xiphophorus helleri*, y *Poecilia sphenops*. Y observan mejores resultados en las crías que en las hembras, con porcentajes hasta del 100% de machos, reportando mortalidad nula.

Nava-Bautista y Rodríguez-Gutiérrez (1997), trabajaron con *Xiphophorus helleri* administrándoles 17  $\alpha$ -metiltstosterona más vitaminas en dosis de 35 mg/kg a crías recién nacidas, durante 40 días, y observan poblaciones monosexo de machos.

Peña (1996), aplica dietilestilbestrol a hembras preñadas de *Xiphophorus helleri* para obtener poblaciones monosexo de hembras en la segunda generación, alcanzando un porcentaje de 84.3% con la concentración de 10 mg/kg de alimento.

Fuentes (1998), aplica 17 $\alpha$ -metiltestosterona para obtener una población monosexo de *Xiphophorus helleri*, logrando un 100% de machos con excelentes características morfológicas, con dosis de 7.5, a 12.5 mg de hormona por kilo de alimento.

Márquez (1999), promueve la diferenciación sexual en crías de peces *Xiphophorus helleri* mediante la administración de 17  $\alpha$ -metiltestosterona y dietilestilbestrol y registra resultados notables en la alteración morfológica y en la estructura gonadal de los organismos. Con la dosis de 12.5 mg/kg MT observa una inducción de 85.7% de machos, en cuanto a la feminización la dosis de 10 mg/kg obtuvo un 84.36% de hembras.

George y Pandian (1995), inducen la feminización sobre el molly negro *Poecilia sphenops* administrando 200 mg/kg de  $\beta$ -estradiol y diethylstilbestrol durante 30 días, donde el tratamiento con  $\beta$ -estradiol produce hembras con genotipo ZZ que al ser cruzadas con machos normales promueven la obtención de progenie solo de machos.

Eversole, 1941; Dzwillo, 1962; Clemens *et al.*, 1966, (Mencionado en Piferrer y Chuan-Lin, 1997) realizan los primeros estudios en estos organismos, induciendo a los guppys *Poecilia reticulata*, hacia la masculinización mediante el tratamiento con andrógenos tanto naturales como sintéticos. Sin embargo, estos tratamientos experimentales no se establecieron para ser usados en organismos que se destinarían a una actividad comercial, aunque la inducción sexual de las hembras genéticas hacia el fenotipo de machos mostró, coloraciones llamativas que son una de las características importantes en la selección de estos

organismos para su comercialización, además, de no afectar el status de la gónada.

Continuando con los trabajos realizados en estos organismos, encontramos el presentado por Takahashi (1975), quién experimento en hembras grávidas de *Poecilia reticulata*, administrándoles metiltestosterona en el alimento en concentración de 400 mg/kg, durante periodo de 8-10 días antes del nacimiento, obteniendo así el 100% de machos a través de este método.

Kavumpurath y Pandian (1993) promueven la feminización de guppies *P. reticulata* con la aplicación de andrógenos sintéticos 17  $\alpha$ -etinilestradiol,  $\beta$ -estradiol 3-benzoato, dietinilstilbestrol y 17  $\beta$ -estradiol en el alimento con dosis de 100-1000 mg/kg, para conseguir un alto porcentaje de reversión en hembras, en un periodo de 5-10 días.

Toft y Baatrup (2001), usan guppies machos expuestos a tratamiento con 4-*tert*-octifenol y 17  $\beta$ -estradiol y encuentran efectos significativos como un incremento en el número de células espermáticas y la reducción del color del cuerpo del pez.

Bayley, *et al.*(1999), demuestran que la exposición de guppies adultos en aguas contaminadas con 4-*tert*-octifenol y 17  $\beta$ -estradiol, causa un dramático descenso en el rango y intensidad del despliegue sexual de los peces.

Lo anterior nos permite resaltar la importancia de la realización de trabajos que aporten información sobre los efectos causados por las hormonas en los organismos, para poder hacer un mejor y más variado uso de estos químicos.

## OBJETIVOS.

- | Determinar el efecto de la hormona 17  $\beta$ -estradiol en dosis de 10 y 15 mg/kg de alimento, en el tratamiento encaminado a la obtención de poblaciones monosexo de *Poecilia reticulata*.
  
- | Determinar los efectos con el tratamiento de 17  $\beta$ -estradiol sobre crías de peces *Poecilia reticulata*, en la manifestación fenotípica de los caracteres sexuales secundarios como la coloración, ausencia del gonopodio, y longitud de aleta caudal.
  
- | Determinar los valores de los caracteres biológicos longitud total, peso, así como el factor de condición y tipo de crecimiento que presentan los organismos.



## METODOLOGIA

### **Obtención de los organismos.**

Este trabajo se realizó con crías de peces guppys *Poecilia reticulata* POECILIIDAE (anexo 1), debido a que es una especie fácil de mantener en condiciones de laboratorio y presentan un marcado dimorfismo sexual. Los organismos fueron aportados por el Laboratorio de Ictiología, UNAM FES Iztacala.

A partir de un lote de reproductores, se seleccionaron hembras grávidas, separándose para el alumbramiento, lo cual es fácil de hacer, ya que en los organismos de esta familia la región abdominal se abulta y toma un color oscuro. Estas hembras se mantuvieron individualmente en acuarios de vidrio de 5mm de espesor, con 60 lts de capacidad, cubiertos para evitar la evaporación del agua. Las hembras fueron delimitadas por medio de un corral de maternidad para evitar el canibalismo, con apertura de malla 0.5 cm. Los peces se mantuvieron con aireación constante, filtración mixta a través de cajas con carbón activado y fibra, temperatura de  $25.5 \pm 0.5$  C° por medio de termostatos, pH de  $7.5 \pm 0.5$  que se registro con un potenciómetro portátil (pHTestr, Okaton Instruments) y agua declorada, por lo menos 24 hrs antes de ser usada.

La fase experimental, se llevó a cabo durante 45 días, utilizando un total de 135 crías de 10 días de nacidas, peso promedio de  $0.01961 \pm 0.002$ gr, una longitud total promedio de  $12.76 \pm 0.6$  mm y longitud de la aleta caudal de  $2.151 \pm 0.08$  mm. Se dividieron en tres grupos (Experimental de 10 mg/kg de alimento, Experimental de 15 mg/kg de alimento y Control, libre de hormona) cada uno por triplicado. Las unidades experimentales constaron de 15 crías por pecera de 60lts; las condiciones ambientales en que se mantuvieron los organismos fueron las ya mencionadas. Se mantuvo un fotoperiodo de 12 horas luz, la limpieza de filtros y peceras se llevo acabo cada dos semanas, mientras que la temperatura se mantuvo por medio de termostatos para cada uno de los acuarios, además se

revisó el abastecimiento del aire y el nivel de agua para evitar el aumento de la temperatura por la evaporación, esto a partir del comienzo de la fase experimental.

### **Preparación del alimento y tratamiento experimental**

La hormona utilizada en este trabajo fue el 17  $\beta$ -estradiol de los laboratorios SIGMA Lte. 70k1206, pureza 98%, (anexo 5); ya que se trata de una sustancia con estabilidad química, y es fácilmente absorbida a través del intestino, pasando al torrente circulatorio, para ser transportada posteriormente a las células blanco.

El 17- $\beta$ -estradiol fue administrado vía oral adicionado al alimento (Purina, trucha primera fase), que se preparó de acuerdo al método utilizado por Guerrero, 1975 y se proporcionó a los peces tomando en cuenta la biomasa del acuario y pesando un 10% de esta en alimento en una dosis al día, para poder administrar una cantidad adecuada y que este se consumiera casi en su totalidad evitando el desperdicio. (Nacario, 1983).

La longitud total (LT) y longitud de la aleta caudal (LAC) se midieron cada 15 días individualmente en todas las crías del experimento, con ayuda de papel milimétrico (Figura 1). El peso (p) por su parte se obtuvo utilizando una balanza analítica (AINSWORTH AA-160; 0.008 mg.).

La proporción de hembras expresada en porcentaje se determinó a los 45 días de experimentación, y 45 días después de finalizar el tratamiento, tiempo en el que los organismos fueron mantenidos con alimento libre de hormona y se llevó a cabo una segunda revisión cualitativa. Los parámetros considerados fueron el color, el desarrollo de la aleta caudal y la aparición de gonopodio.

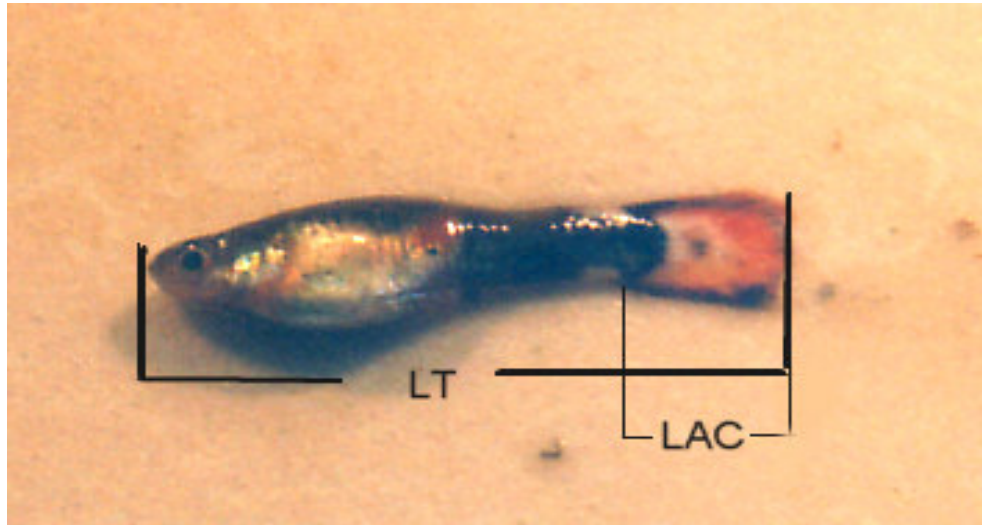


Figura 1. Límites para obtener los valores, longitud total (LT) y longitud de aleta caudal (LAC).

#### **Tratamiento estadístico.**

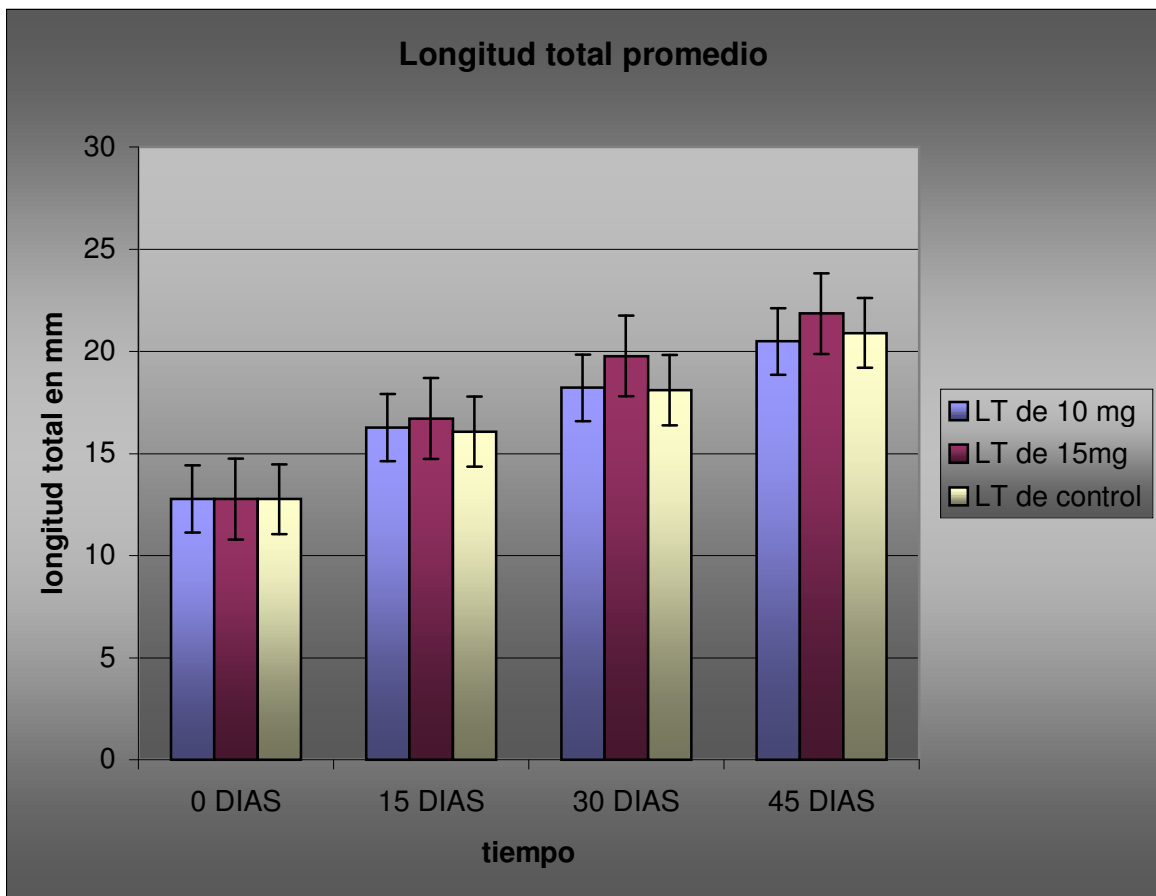
Los resultados cuantitativos de la longitud total (LT), longitud de la aleta caudal (LAC) y peso (p) se evaluaron utilizando los métodos estadísticos de análisis de varianza (ANOVA) y la prueba honesta de Tukey  $p=0.005$ ; en el caso de proporción sexual se procesó mediante una Chi cuadrada  $p=0.005$ , utilizando el programa: Statistica para Windows versión 4.5.

Los datos de peso y longitud total se aplicaron también para determinar el factor de condición (**a**) así como el tipo de crecimiento (**n**), a través del modelo alométrico  $W= a L^n$ , además se llevó a cabo la obtención de las tasas de crecimiento instantáneo para longitud total, longitud de la aleta caudal y peso a través de la fórmula,  $T.C.I.= \Delta x/t$ , donde (**x**) es substituida por (LT, LAC y p). (Duran *et al.*,1984).

## RESULTADOS.

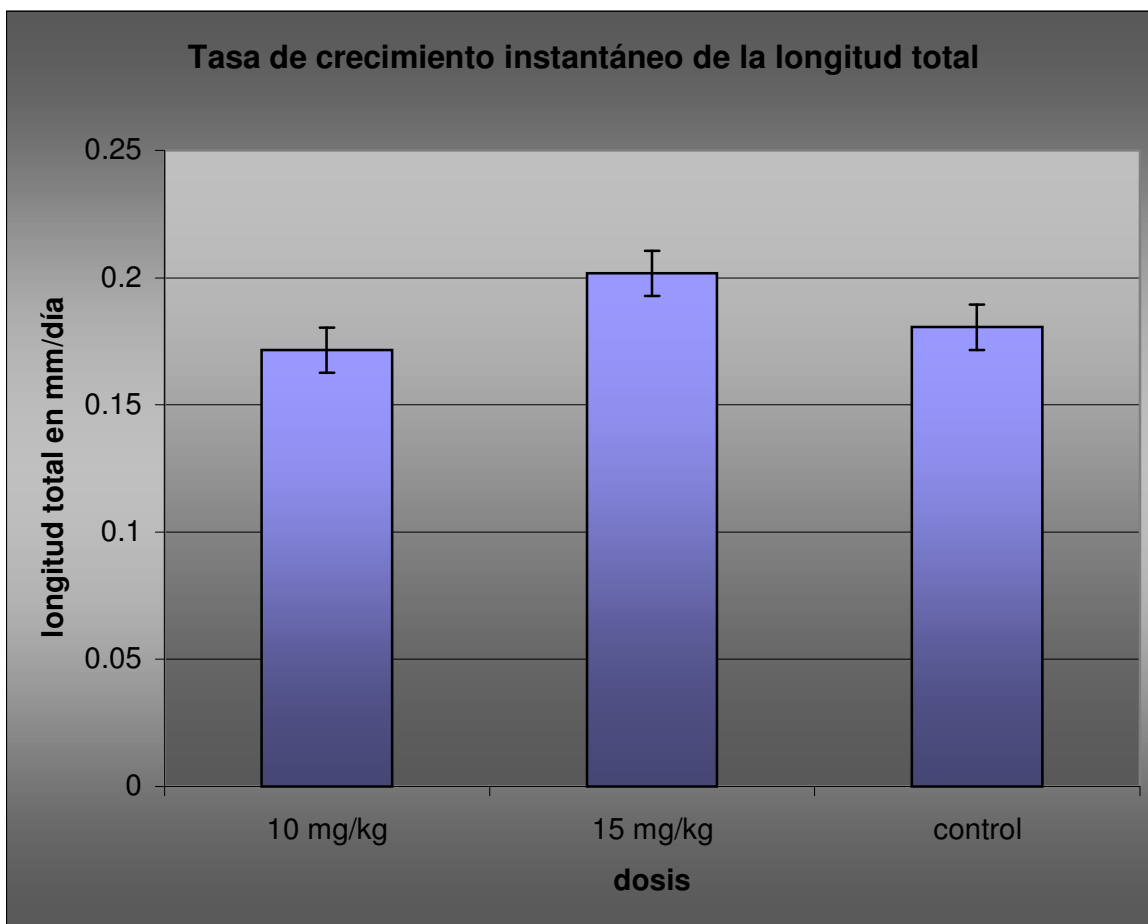
### Longitud total (LT).

La gráfica 1 muestra la longitud total promedio de los organismos durante la fase experimental. Se observa que al final del tratamiento la longitud total tiene valores de 20.5 mm, 21.8 mm, y 20.9 mm en la dosis de 10 mg/kg, 15 mg/kg y el control respectivamente.



Gráfica 1. Comportamiento de longitud total promedio durante el periodo de tratamiento con las diferentes dosis de la hormona  $17\beta$  - estradiol.

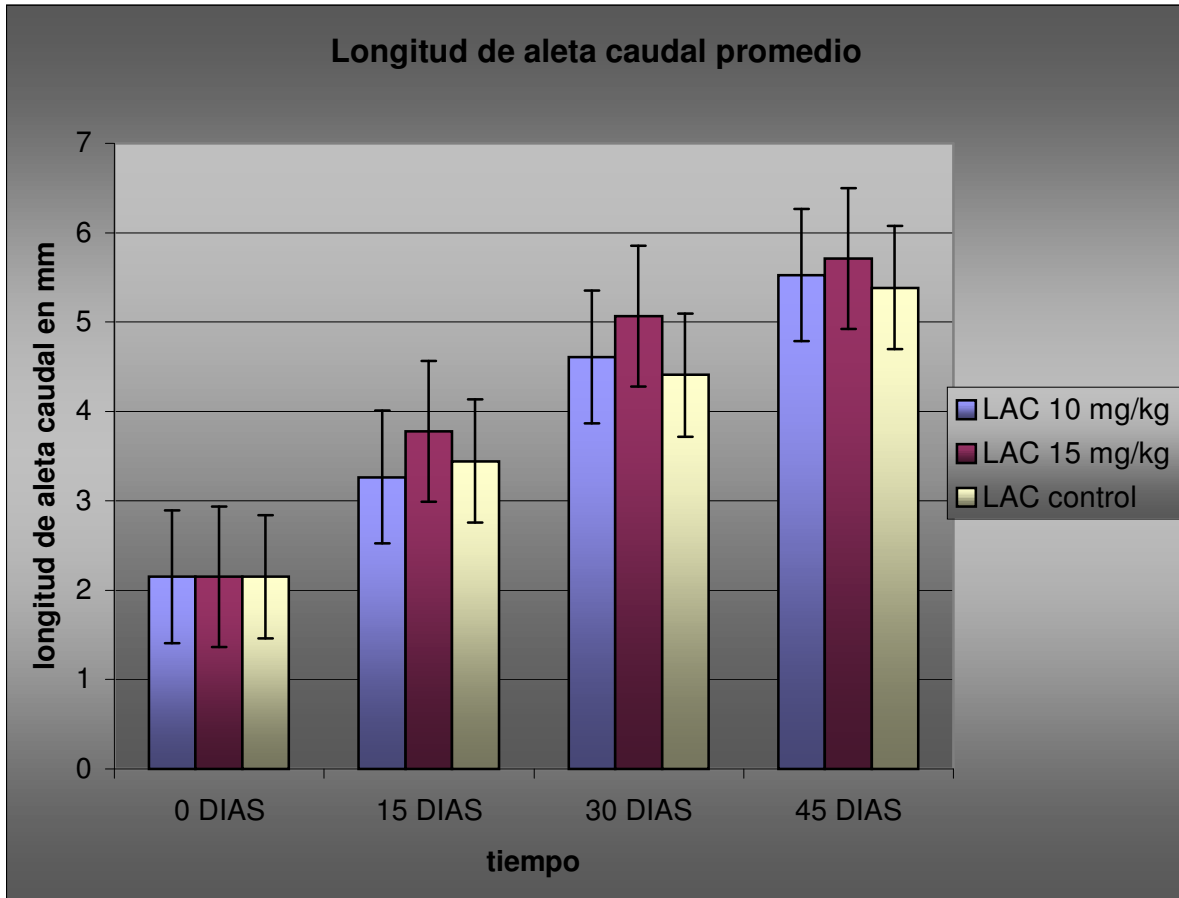
La tasa de crecimiento instantáneo de la Longitud Total para la dosis de 10 mg/kg fue de 0.171 mm/día, en la de 15 mg/kg fue de 0.205 mm/día y para el control 0.180 mm/día.



Gráfica 2. Tasa de crecimiento instantáneo en la longitud total por día durante el tratamiento con la hormona.

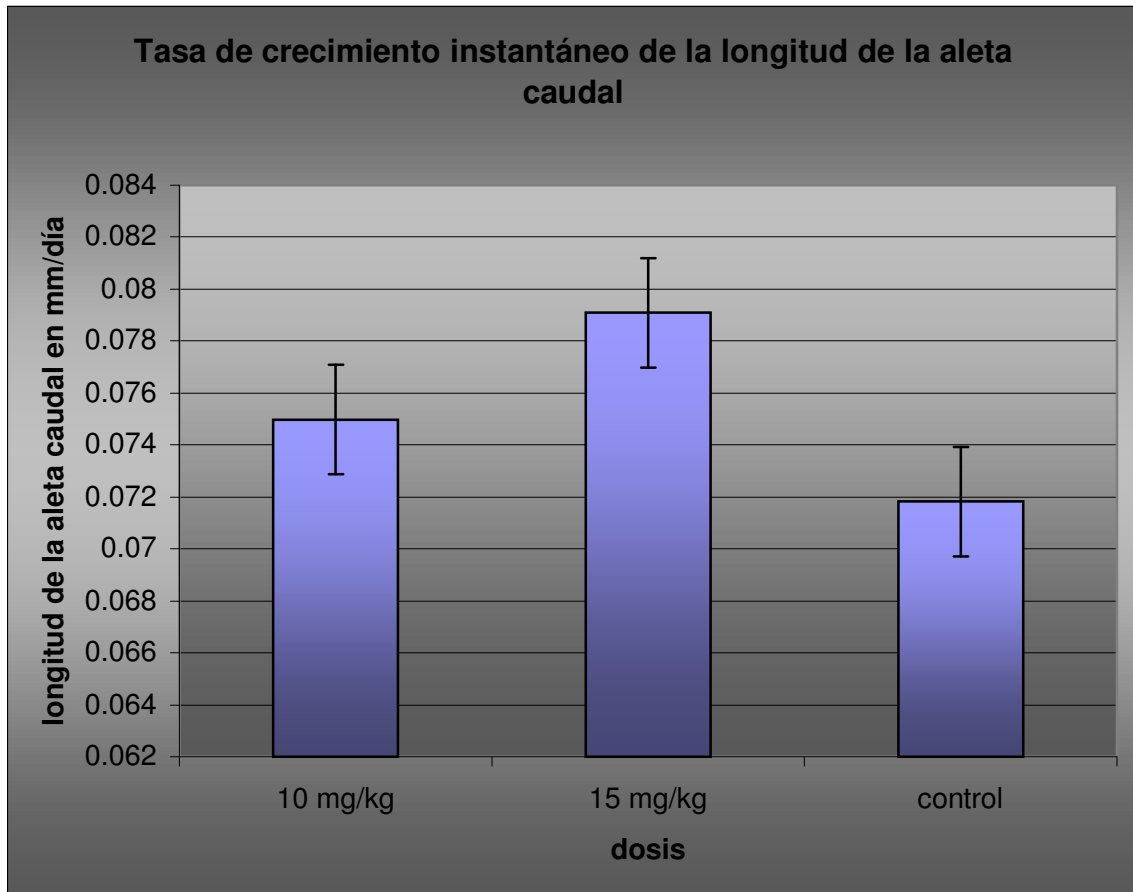
## Longitud de Aleta Caudal **LAC**.

La gráfica 3 muestra la longitud de aleta caudal promedio de los organismos durante la fase experimental. Se observa que al final del tratamiento la longitud de la aleta caudal tiene valores de 5.50 mm, 5.71 mm y 5.48 mm en la dosis de 10 mg/kg, 15 mg/kg y el control respectivamente.



Gráfica 3. Comportamiento de la longitud de la aleta caudal promedio durante el tratamiento con 17  $\beta$ -estradiol para las dosis y control.

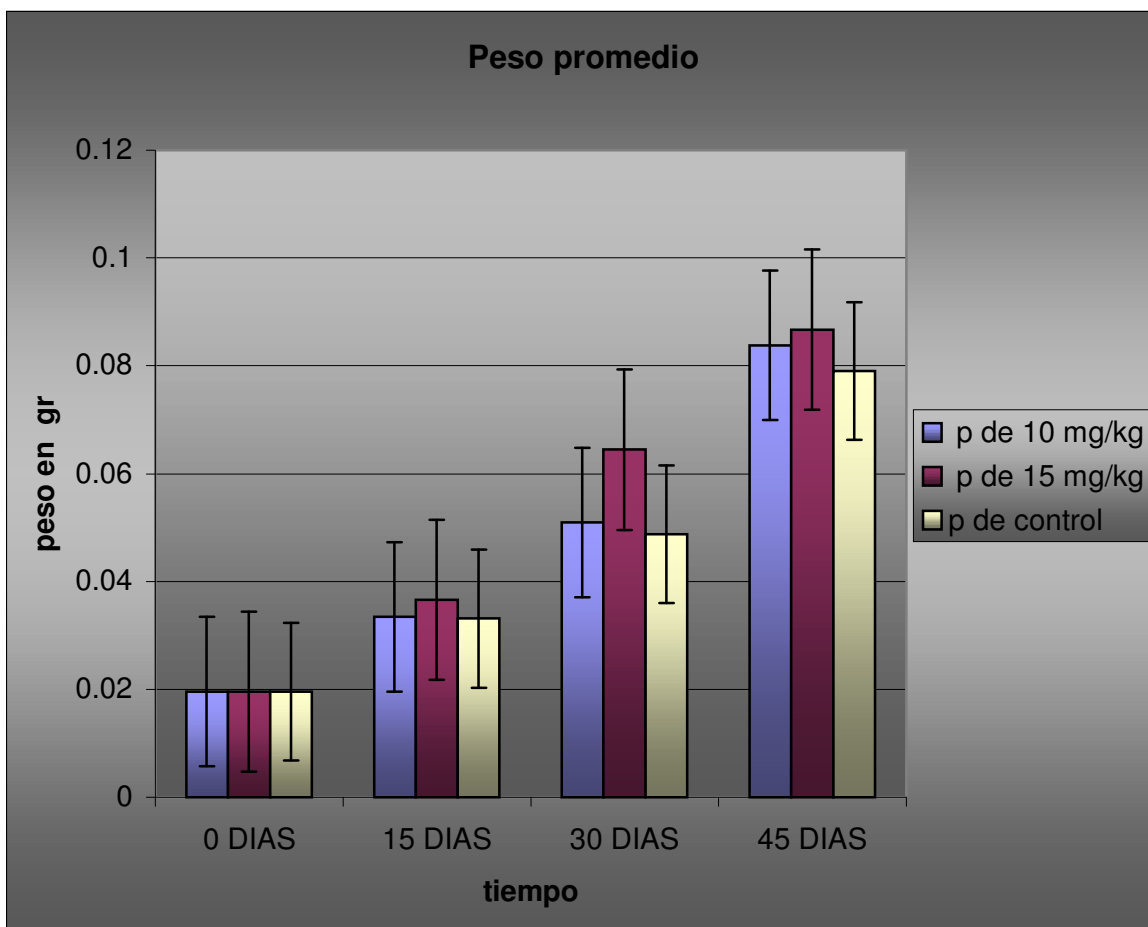
La gráfica 4 muestra la tasa de crecimiento instantáneo de la longitud de la aleta caudal, que para la dosis de 10 mg/kg fue de (0.075 mm/día) en la dosis de 15 mg/kg (0.079 mm/día) y para el control (0.072 mm/día).



Gráfica 4. Tasa de crecimiento instantáneo de la longitud de aleta caudal durante el tratamiento con la hormona 17  $\beta$ -estradiol.

## Peso p.

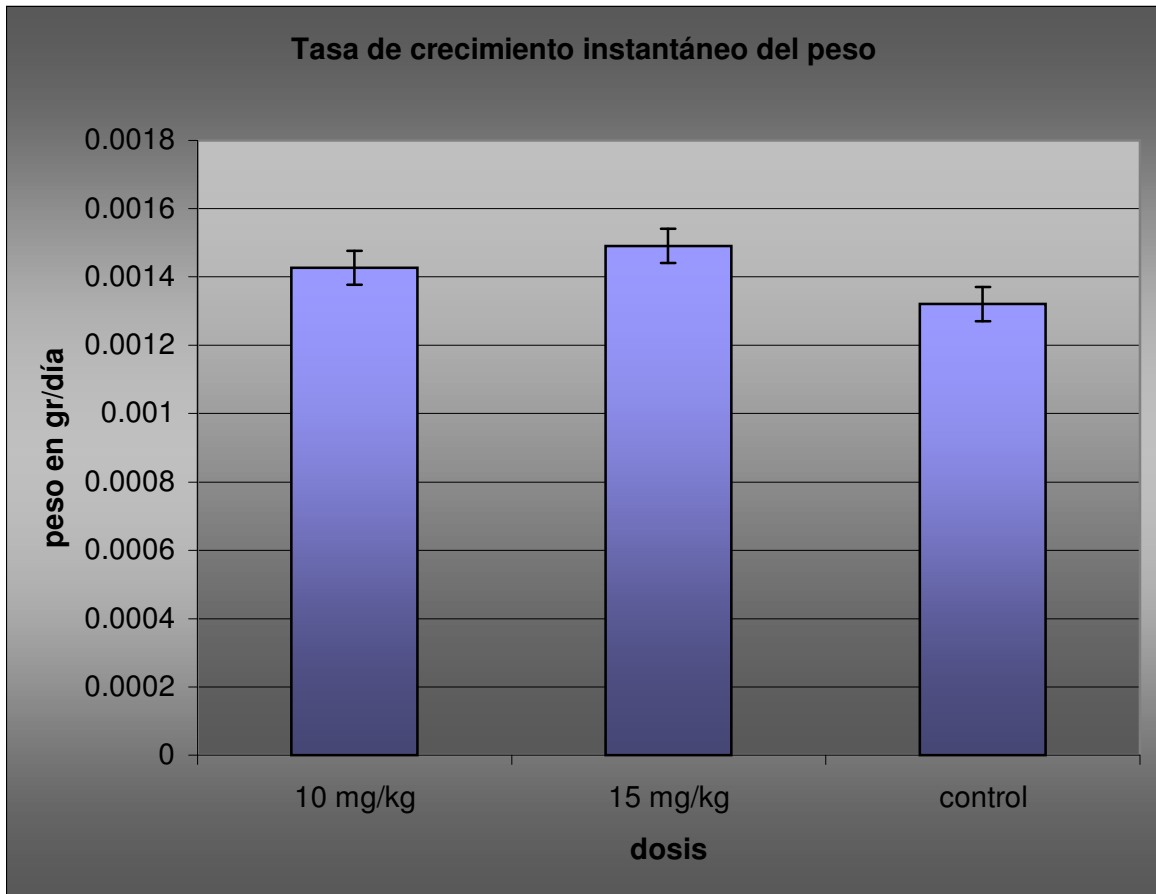
La gráfica 5 muestra el peso promedio de los organismos durante la fase experimental. Se observa que al final del tratamiento dicho peso tiene valores de 0.084 gr, 0.087 gr y 0.079 gr en la dosis de 10 mg/kg, 15 mg/kg y el control respectivamente.



Gráfica 5. Variación del peso promedio a través del tiempo, de las dosis y control, durante el tratamiento con la hormona 17 β-estradiol.



El crecimiento instantáneo en el peso fue de 0.00140 gr/día para la dosis de 10 mg/kg, de 0.00150 gr/día para la de 15 mg/kg y para el control 0.00130 gr/día.



Gráfica 6. Tasa de crecimiento instantáneo del peso durante el tratamiento con la hormona 17  $\beta$ -estradiol.

### Relación **peso-longitud**.

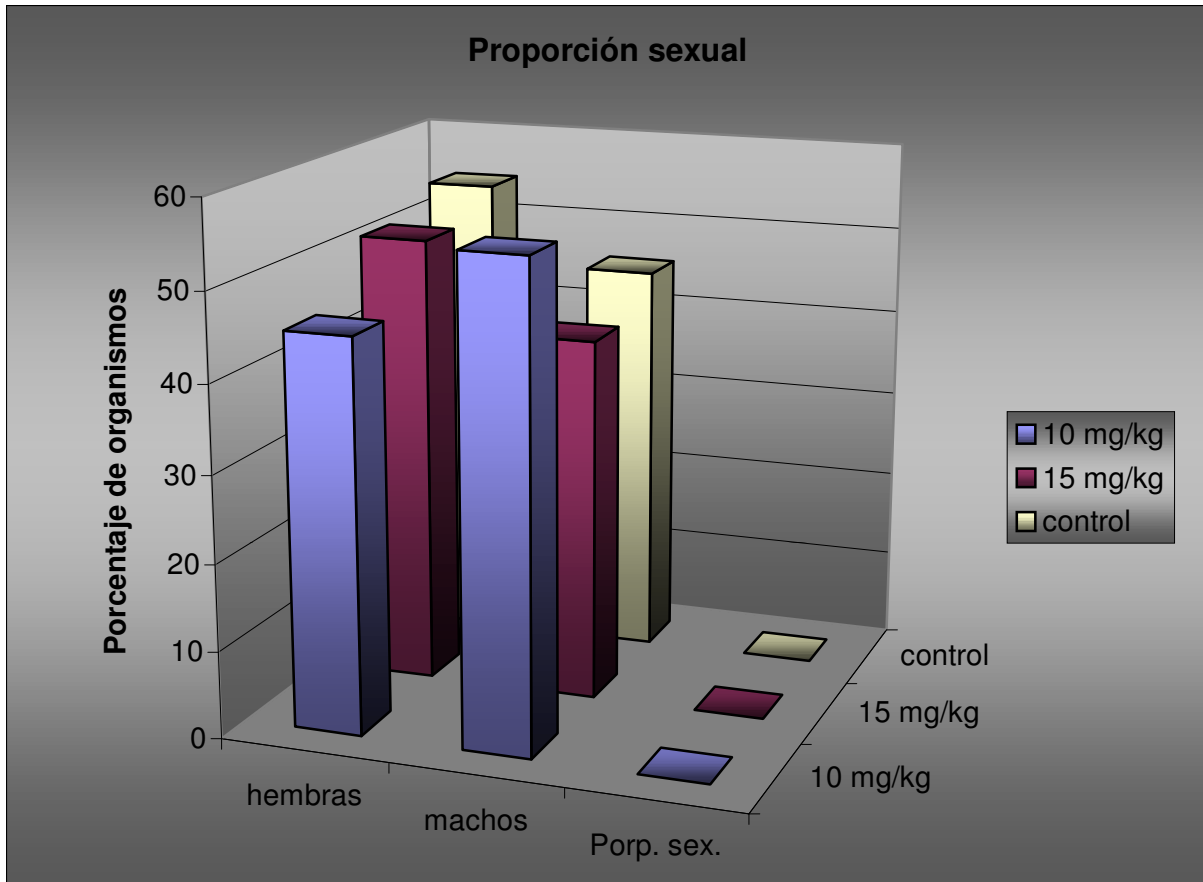
En la tabla 1, se muestran los valores del factor de condición con el valor más alto para la dosis de 10 mg/kg. Además se observa la relación peso-longitud obtenidos con los diferentes tratamientos y control utilizados.

<b>Tratamiento.</b>	<b>Factor de Condición (a)</b>	<b>Relación (n)</b>	<b>Tipo de relación</b>
<b>10 mg/kg</b>	0.03	2.6	Anisométrica
<b>15 mg/kg</b>	0.01	3.0	Isométrica
<b>control</b>	0.006	3.0	Isometrica

Tabla 1. Valores del factor de condición (a) y tipo de crecimiento (n).

## Proporción Sexual.

Al término del tratamiento, los porcentajes obtenidos para la dosis de 10 mg/kg fueron de 45% hembras y 55% machos con una proporción sexual promedio de 1:1, en la dosis de 15 mg/kg, 51.6% hembras, 48.4% machos y la proporción fue de 1:1. Por último, para el control tenemos que el 54.54% son hembras, 45.46% machos y su proporción sexual fue de 1: 1.



Gráfica 7. Proporción sexual, obtenida al finalizar el tratamiento con la hormona 17 β-estradiol.

A los 45 días después de finalizar el tratamiento, se observó, en el caso de la dosis de 15 mg/kg a dos machos (Figura 2) con una mayor talla y volumen, muy similar a la que presentan las hembras, pero con las características típicas de un macho.



Figura 2. Macho control comparado con el macho tratado con la dosis de 15 mg/kg de 17  $\beta$ -estradiol.

Las hembras tratadas con la dosis de 10 mg/kg al finalizar el tratamiento, presentan preñes y aproximadamente 15 días después, para este mismo tratamiento un número de 15 crías en total; en cuanto a la dosis de 15 mg/kg se presenta la misma situación, pero con un valor mas alto en crías (20), y en el caso del control, esta situación no se presentó. (Tabla 2)

<b>Dosis de 10 mg/kg</b>				
<b>Total de organismos</b>	<b>Sexo</b>	<b>Hembras preñadas</b>	<b>Crías totales</b>	<b>observaciones</b>
40	18 hembras	3	15	ninguna
	22 machos			ninguna
<b>Dosis de 15 mg/kg</b>				
43	22 hembras	3	20	ninguna
	21 machos			2 machos con tamaño y complexión muy similares a los de hembras
<b>Control</b>				
44	24 hembras	4	0	ninguna
	20 machos			ninguna

Tabla 2. Datos sobre el total de hembras, machos, preñes, número de crías y situaciones presentadas 45 días después de finalizar el tratamiento con el 17  $\beta$ -estradiol en las dosis de 10, 15 mg/kg y control.

## DISCUSIÓN y ANÁLISIS.

### Longitud Total (LT).

El efecto de la hormona sobre el crecimiento en longitud total de los organismos es directamente proporcional a la concentración. En la grafica 1 se observa que durante las evaluaciones en los diferentes tiempos, los organismos expuestos a la concentración de 15 mg/kg reflejan un mayor crecimiento que en aquellos expuestos a 10 mg/kg y los del grupo control ( $p < 0.05$ ). Pasados los 45 días de tratamiento estos valores fueron en promedio 20.5 mm, 21.8 mm, y 20.9 mm en la dosis de 10 mg/kg, 15 mg/kg y control respectivamente. Por otra parte, los organismos expuestos a 10 mg/kg comparados con el control, tienen resultados semejantes, durante los primeros 30 días con 18.2 mm y 18.0 mm respectivamente, a los 45 días de tratamiento hay una ganancia mayor de longitud total en el control con 20.9 mm comparado con la dosis de 10 mg/kg con 20.5 mm. Estos resultados indican que la concentración de 10 mg/kg no tiene un efecto significativo sobre el crecimiento de la longitud total de los peces ( $p > 0.05$ ), mientras que los organismos expuestos a 15 mg/kg tienen una ganancia significativa (anexo 2).

El efecto de la concentración de la hormona es más evidente en la tasa de crecimiento instantáneo (gráfica 2), ya que la dosis de 15 mg/kg muestra un crecimiento promedio de 0.205 mm/día seguido por los individuos del control con 0.180 mm/día y por último expuestos a 10 mg/kg con 0.171 mm/día.

De acuerdo a lo anterior, se observa que el crecimiento en la longitud de los organismos es afectado con el uso de la 17  $\beta$ -estradiol en concentraciones superiores a los 10 mg/kg, lo que concuerda con lo observado por Baca 2002, que reporta ganancia de LT con el uso de la hormona dietilestilbestrol, en pez cola de espada para la dosis de 12 mg/kg; de igual forma Saillant, *et al.* 2001, quien al trabajar con la especie de róbalo *Dicentrarchus labrax*, administrando dosis vía oral a través del alimento de 12.5 mg/kg de 17  $\beta$ -estradiol, obtuvo ganancia en la

longitud LT de los organismos tratados en comparación con sus controles; Marquez, 1999, también observa resultados en cuanto a la ganancia de LT con el uso de las hormonas (17  $\alpha$ -metiltestosterona y dietilelbestrol) en *Xiphophorus helleri*. Fuentes 1998, al utilizar otra hormona sexual la 17  $\alpha$ -metiltestosterona obtuvo efectos reflejados en el crecimiento de la LT con la dosis más alta (12.5 mg/kg) que usó en pez cola de espada *Xiphophorus helleri*. Por otra parte, Salam y Ronald, 1997, trabajando con *Pomoxis nigromaculatus*, obtiene resultados en la ganancia de longitud total al aplicar la 17  $\alpha$ -metiltestosterona con dosis de 30 y 60 mg/kg adicionada al alimento. Shelbourn *et al.*, 1992, encontró también diferencias en cuanto al crecimiento de longitud total en algunas de las etapas del desarrollo de *Oncorhynchus kisutsh* con el uso de la 17  $\alpha$ -metiltestosterona. Las investigaciones mencionadas respaldan los datos obtenidos en el presente trabajo ya que las hormonas sexuales intervienen de manera directa en el desarrollo de los organismos tratados, esto se puede deber de acuerdo a Santandreu, 1994, a que las hormonas estimulan el aumento en las síntesis de proteínas, la actividad proteolítica en el tracto digestivo, músculos y otros tejidos, así como la absorción de los aminoácidos desde el intestino. De acuerdo con el mismo autor, la ingesta de comida aumenta en los peces tratados y esto se refleja en el incremento de la absorción de aminoácidos y menos actividad catabólica en los mismos, esto fue observado en la especie *Oncorhynchus masou* con dosis de 0.1, 1.0, 3.0 y 7.0 mg/kg de 17  $\alpha$ -metiltestosterona y tiroxina. Peter y Chang en 1999, en su investigación, mencionan que los esteroides ováricos estimulan la producción de neuropéptidos Y (NPY), que desempeñan un papel importante en la estimulación de la ingesta de alimento, al incrementarla en peces dorados, también comentan el papel que juega el estradiol en particular, sobre el aumento de los rangos de secreción de la hormona del crecimiento (GH) que se refleja en los valores de las tasas de crecimiento. Otro autor que ha investigado los efectos de hormonas sexuales, específicamente 17  $\beta$ -estradiol y testosterona en humanos y ha obtenido buenos resultados es Notelovitz 2002, encuentra que estas sustancias son responsables en gran medida del desarrollo y buena salud de los huesos ya que en la mayoría de las células óseas las hormonas encuentran

receptores. El mismo autor habla sobre los estrógenos y andrógenos que incrementan la densidad mineral en los huesos de adolescentes, adultos y mujeres premenstruales, comparados con individuos que no fueron tratados con estas hormonas.

Lo anterior nos indica que los organismos tratados acumulan una mayor cantidad de masa ósea por efecto directo sobre el proceso osteogénico, así como desarrollo y crecimiento de las células de los huesos, teniendo como una consecuencia el aumento de algunos caracteres, más específicamente la ganancia en LT, como se observó en el presente trabajo, donde los individuos hormonados presentaron mayor longitud durante el tratamiento sobre todo con la dosis más alta, que en este caso fue de 15 mg/kg.



## Longitud de Aleta Caudal **LAC**.

Los resultados de esta investigación muestran una relación directa entre las dosis y el crecimiento de longitud de la aleta caudal (LAC). Como se puede ver en la gráfica 3. En donde, durante los tiempos de tratamiento la dosis de 10 mg/kg y 15 mg/kg comparadas con el control muestran un mayor crecimiento. Solo a los 15 días, la dosis de 10mg/kg está por debajo de la dosis de 15 mg/kg y del control, sin embargo a los 30 días esta misma comienza a presentar una ganancia significativa sobre control, pero todavía por debajo de la dosis de 15 mg/kg que comienza a separarse considerablemente, arrojando los siguientes valores promedio; 5.07 mm para 15 mg/kg, 4.61 mm para 10 mg/kg y 4.41 mm para el control. Por otro lado a los 45 días, aunque la dosis de 15 mg/kg sigue teniendo un valor considerablemente más alto (5.71 mm) la dosis de 10 mg/kg muestra un número muy cercano (5.50 mm) y ambas se alejan del control con un valor de (5.48 mm); es decir, en este periodo tanto las dosis como el control presentan un comportamiento muy similar. Con la aplicación de las pruebas estadísticas se observan de manera clara las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la dosis de 15 mg/kg comparada con la de 10 mg/kg y el control, pero no se muestran diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre la dosis de 10 mg/kg y el control. Estos cambios fueron observándose a partir de la segunda medición (15 días) con excepción entre la dosis de 10 mg/kg y el control que presentan un comportamiento similar. A los 30 días se presenta la misma situación la dosis de 10 mg/kg no presenta diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en comparación con el control pero ambas difieren ( $p < 0.05$ ) de 15 mg/kg. En el día 45 tanto las dosis como el control no presentan diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre ellos. Esto puede deberse a que aproximadamente a esta edad, los caracteres sexuales secundarios como el aumento en la LAC de los machos ya se encuentran presentes y esto influye directamente en el resultado (anexo 3).

Como se observa los efectos son mas marcados en las dosis, esto se puede observar en la gráfica 4, donde la tasa de crecimiento instantáneo de la dosis de 10 mg/kg es de (0.075 mm/día), la de 15 mg/kg presenta (0.079 mm/día) y ambas

están arriba del control con (0.072 mm/día) por lo que se puede decir en este caso que ambas dosis producen un efecto similar en cuanto a la LAC, sin embargo, la dosis que más efecto causa sobre el crecimiento es la de 15 mg/kg.

Los resultados anteriores pueden ser comparados con los obtenidos por Fuentes, 1998, quien al trabajar con el pez cola de espada *Xiphophorus helleri*, y administrar, dosis de 12.5 mg/kg de 17  $\alpha$ -metiltestosterona, observa el aumento de la longitud de aleta caudal en comparación con sus controles. Esto es muy similar a lo que ocurrió en el presente trabajo, sin embargo se está hablando de especies diferentes y hormonas distintas. Fuentes logra la inducción de hembras a machos, observando los caracteres secundarios entre los que se encuentra la aparición de la cola de espada. Por el contrario el presente trabajo presenta como objetivo inducir los organismos hacia hembras, donde la presencia de una aleta caudal más grande, no es lo que se busca. Por lo tanto se puede atribuir de acuerdo a los resultados obtenidos, que la LAC en el caso de los peces tratados en esta investigación; es entre otras cosas el resultado del efecto de la hormona, como ya se menciono; en cuanto a la ganancia de una longitud debida a la manera en actúa sobre la salud y buen crecimiento de los huesos y otros tejidos (Notelovitz 2002), así como el incremento en la síntesis de proteínas y el aumento en la ingestión de alimento que se ve reflejado en el crecimiento, y ganancia en algunos caracteres de los organismos, (Santandreu 1994), en este caso la longitud de la aleta caudal.

Es importante resaltar que la mayoría de los trabajos no mencionan la LAC, por lo tanto, esta investigación se considera como una de las primeras en arrojar datos importantes sobre el comportamiento de este parámetro en *Poecilia reticulata*, ya que se considera un carácter de importancia comercial en algunas de las especies de ornato.

## Peso P.

Los datos obtenidos durante la presente investigación, muestran un crecimiento en peso directamente proporcional a las dosis, al utilizar la hormona 17  $\beta$ -estradiol sobre los organismos. En este caso, la dosis hormonal, de 15 mg/kg fue la que más efecto causó sobre los individuos, como se puede observar en la gráfica 5, donde a partir de los primeros 15 días, esta se separa de los otros tratamientos. Durante la medición en el día 30 de tratamiento, la dosis de 15 mg/kg se encuentra considerablemente por encima con respecto a la dosis de 10 mg/kg y con el control mostrando los siguientes valores promedio, 0.0644, 0.0509 y 0.0487 gr, respectivamente. Después en el día 45 los datos obtenidos favorecen a la dosis de 15 mg/kg con un valor de (0.087 gr), aunque se observa que la dosis de 10 mg/kg muestra un número muy cercano, con (0.084 gr), por otro lado el control arroja el resultado mas bajo en la última medición que es de (0.079 gr). Al aplicar las pruebas estadísticas sobre este parámetro se presentan diferencias significativas que favorecen a la dosis de 15 mg/kg ( $p < 0.05$ ) en cuanto al crecimiento en peso, sobre la dosis de 10 mg/kg y el control, pero sin presentarse entre estos dos últimos ( $p > 0.05$ ). La tasa de crecimiento instantáneo (gráfica 6), muestra el comportamiento de la dosis al terminar el tratamiento, donde 15 mg/kg arroja un valor promedio de (0.00150 gr/día), la de 10 mg/kg (0.00140 gr/día) y el control (0.00130 gr/día), lo que indica que la dosis de 15 mg/kg afecta en mayor proporción el crecimiento en peso de los organismos (anexo 4).

Los resultados anteriores se pueden comparar con los obtenidos por Baca, 2002, quien observa una ganancia en cuanto al crecimiento en peso al aplicar la dosis de 12 mg/kg de dietilelbestrol, en comparación con su dosis de 8 mg/kg y su control, sobre crías de pez cola de espada *Xiphophorus helleri*; Gannam 1990, por su parte menciona la ganancia de peso en bagres, al utilizar el estradiol con dosis de 5 y 8 mg/kg; Salliant 2001, al trabajar con 17  $\beta$ -estradiol en dosis de 12.5 mg/kg adicionada al alimento obtiene ganancias en cuanto al peso, debido, al aumento de la masa muscular y un incremento en la ingesta de alimento en algunas etapas del desarrollo; favoreciendo a los machos que fueron inducidos

sexualmente hacia hembras. Por otro lado, investigadores como Shelbourn *et al.* 1992, al aplicar 17  $\alpha$ -metiltestosterona y 3,5,3'-triiodo-L-tironina por inmersión y adherida al alimento en diferentes concentraciones, sobre *Oncorhynchus kisutch*, obtiene un efecto de crecimiento en cuanto al peso del organismo en algunas de sus etapas del desarrollo. Salam y Ronald, 1997, observa efectos en cuanto al crecimiento en el peso, por la aplicación de 17  $\alpha$ -metiltestosterona con las dosis de 30 y 60 mg/kg sobre la especie *Pomoxis nigromaculatus* en dos diferentes edades. Santandreu, 1994, en su trabajo sobre el crecimiento del salmón *Oncorhynchus masou*, al aplicar dosis de 0.1, 1.0, 3.0 y 7.0 mg/kg de 17  $\alpha$ -metiltestosterona observa un aumento del peso de los organismos, que se debe a la estimulación de la hormona; ya que menciona que algunas hormonas sexuales administradas oralmente pueden ser efectivas promotoras del crecimiento, debido a que incrementan la síntesis de proteínas, elevando la actividad proteolítica del músculo; este autor explica que el aumento de peso está significativamente ligado a la dosificación, ya que la hormona incrementa la síntesis de proteínas en varios tejidos incluyendo los musculares, que como se sabe son los que proporcionan en gran parte el peso del organismo. El mismo Santandreu, menciona que la aplicación de las hormonas también incrementa la ingesta de comida es decir se eleva el apetito de los organismos, por la absorción de las proteínas y poca actividad catabólica, que se ve reflejada en un aumento en el peso del organismo. Peter y Chang 1999, concuerdan con Santandreu al explicar el efecto que algunas hormonas ováricas como el estradiol tienen sobre la ingesta de alimento. Entre los trabajos con otros organismos, donde se utilizan hormonas sexuales se encuentran el realizado por Geary y Asarian, 1999, que ocupa estradiol aplicado a ratas para normalizar el peso del cuerpo, obteniendo buenos resultados en la ganancia de peso en algunas etapas del ciclo ovulatorio. Notelovitz, 2002, al trabajar con estrógenos y andrógenos en humanos de distintas etapas de desarrollo, encuentra buenos resultados, ya que ambas hormonas sexuales son importantes para la salud y fuerza de los huesos, así como en la acción metabólica, incremento de la masa muscular y su fuerza, que se refleja en un aumento en el peso. Los trabajos mencionados anteriormente apoyan la acción de

las hormonas sexuales como promotores del crecimiento en algunas dosis para ciertos parámetros como es el caso del peso.

## Relación **peso-longitud**.

Dentro de los resultados arrojados en la investigación, sobre la relación peso-longitud tenemos los siguientes. Se obtuvo en primer termino un mayor factor de condición (a) en la dosis de 10 mg/kg con un valor de (0.03); en segundo lugar se tiene el valor de la dosis de 15 mg/kg con (0.01); y por último el valor mas bajo, en cuanto al factor de condición, lo presenta el control con (0.006). Como se observa los individuos hormonados son los que presentaron un mejor estado fisiológico, en comparación con el control,(Tabla 1); esto puede deberse al incremento en la ingesta de comida y al aumento en la síntesis de proteínas. Como se analiza en la dosis de 10 mg/kg se encontró una mejor proporción entre la longitud y el peso, lo que indica que esta dosis promueve de alguna manera un mejor aprovechamiento de los recursos que el organismo tiene, sin afectar la morfología y fisiología del pez. Al comparar la dosis anterior con la de 15 mg/kg, vemos que obtiene un menor valor, sobre al factor de condición, que puede deberse a que esta dosis afecta de alguna manera la morfofisiología del individuo, o en otras palabras, se obtienen algunos beneficios con esta dosis como el crecimiento en peso o longitud, sin embargo se puede estar sacrificando el buen estado fisiológico del organismo, como por ejemplo el desarrollo sexual y ciclo reproductivo. Lo anterior se apoya por los resultados arrojados en cuanto a la ganancia en longitud y el aumento del peso, mostrados anteriormente (Gráficas 1 a 6).

En cuanto al tipo de crecimiento (n), para la dosis de 10 mg/kg, este fue anisométrico ( $n \sim 2.6$ ), lo cual explica que el peso no fue directamente proporcional a la longitud; por otro lado, la dosis de 15 mg/kg tuvo un tipo de crecimiento isométrico ( $n=3$ ), junto con el control ( $n=3$ ) esto significa que en los dos casos hubo un aumento directamente proporcional entre el peso y la longitud del organismo. La aparente estabilidad entre la relación peso-longitud fue debida a que los peces se comenzaron a hormonar después de 10 días de nacidos, esto nos da de alguna manera seguridad en cuanto a la homogeneidad de las muestras, ya que la mayoría de los organismos se tomaron de un grupo en donde

todos eran individuos paridos por la misma madre y su crecimiento hasta finalizar el experimento, fue homogéneo viéndose afectado solo por el uso de la hormona.

Los valores obtenidos en el presente trabajo, a cerca del factor de condición y tipo de crecimiento, muestran una mayor probabilidad de que los peces durante el experimento presentaron "buena calidad de vida".

## **Proporción e inducción sexual.**

Los resultados observados en este trabajo después de 45 días de tratamiento con la hormona son: en el caso de la dosis de 10 mg/kg un porcentaje total de 45% hembras y 55% machos; mientras que en la de 15 mg/kg 51.6% hembras y 48.4% machos y en cuanto al control 54.54% hembras y 45.46% machos. Posteriormente, transcurridos 45 días ya sin tratamiento se obtuvo el mismo porcentaje de machos y hembras en cada dosis y el control. Lo anterior puede indicar que no hubo un efecto en cuanto a la inducción sexual para la obtención de una población monosexo de hembras como se pretendía en los organismos, esto se observa en la gráfica 7, en la cual al finalizar del tratamiento, y pasados los 45 días sin hormonar, para la dosis de 10 mg/kg la proporción sexual fue de (1 hembras/ 1 machos) lo mismo sucede con la dosis de 15 mg/kg (1 hembras/1 machos) y con el control (1 hembras/ 1 machos); si se comparan los valores obtenidos, en cuanto al número de individuos por sexo, entre las dosis y posteriormente cada una con respecto al control, lo que se observa nos indica que la hormona no actúa sobre la inducción sexual en las crías de los peces, con estas dosis. Estos resultados se sustentan, después de la aplicación del estadístico, donde se muestra que no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre los organismos dosificados y el control, por lo que se concluye que ninguna de las dosis utilizadas induce sexualmente a los organismos.

Al comparar la presente investigación con otras previamente realizadas, se tienen las siguientes observaciones. Salam, 1997, trabajó con la especie *Promoxis nigromaculatus* induciendo reversión sexual con la administración de  $17\alpha$ -metiltestosterona a través del alimento en dos edades del pez (40 y 60 días de edad), y obtiene buenos resultados con la dosis de 60 mg/kg a los 40 días de edad, con un porcentaje de 90% machos, aunque para la misma edad pero en dosis de 30 mg/kg 71% de machos observados, por otro lado la dosis de 60 mg/kg a los 60 días arroja el porcentaje mas bajo 58%; todo esto de acuerdo al autor se debió a que la administración de la hormona en el caso de los 40 días se ve favorecida por que aun la gónada no se ha diferenciado. Otro estudio que arroja



resultados con el uso de la  $17\ \alpha$ -metiltestosterona, es el realizado por Low *et al*, 1994, mencionado en (Piferre y Chuan-Lin, 1997) con dosis de 20, 40 y 80 mg/kg adicionadas al alimento en un periodo de 2 a 4 semanas, él observa características sexuales secundarias de machos en todos sus organismos tratados en comparación con sus controles, pero el mismo investigador reporta que al dejar de hormonar y después de un periodo de 12 semanas los machos inducidos regresan a su sexo original, es decir los efectos de esta hormona en estas condiciones son solo temporales. Entre otras investigaciones están las realizadas por George y Pandian, 1995, sobre crías de la especie *Poecilia sphenops*, quienes al administrar  $17\ \beta$ -estradiol a través del alimento en dosis de 200 mg/kg durante 30-45 días de tratamiento, reportan un porcentaje de 100% de hembras inducidas.

Por su parte, Melard 1995, obtiene en 40 días de tratamiento con  $17\ \beta$ -etinilestradiol un porcentaje de 93-98% de hembras inducidas de *Oreochromis aureus*, con dosis de 100,150 y 200 mg/kg y resalta que entre más alta sea la dosis mayor cantidad de organismos inducidos se obtienen. Otras investigaciones que reportan buenos resultados con dosis parecidas son los de Pandian y Sheela, 1995, que inducen sexualmente a *Poecilia reticulata* al administrar  $17\ \beta$ -estradiol, en cantidades que van de 200-400 mg/kg enfatizando que solo con dosis de esta magnitud se logra una inducción completa y que la manera mas recomendable para hormonar es a través del alimento en el caso de esta especie. Gomelsky *et al*, 1994, al trabajar con *Cyprinus carpio*, administra 100 ppm de metiltestosterona en el alimento, y logra como porcentaje más alto 96.6% de machos inducidos en periodo de 40 días. Mientras que Soosamma, Kavumpurath y Pandiam, 1993, utilizan dosis desde 100 hasta 1000 mg/kg de  $17\ \beta$ -estradiol, sobre hembras grávidas, para inducir a la progenie, que sigue siendo hormonada 20 días más a partir del sexto día de haber nacido , lo que produce un 100% de feminización. Con base a los resultados de estos autores podemos explicar el porqué los organismos hormonados en la presente investigación no fueron inducidos sexualmente hacia hembras, y esto se debió a las concentraciones de

las dosis utilizadas, en comparación con las de todas las investigaciones anteriores; por lo que se puede afirmar que ninguna de las dosis de este trabajo son recomendables para la inducción sexual y obtención de poblaciones monosexo de *Poecilia reticulata*.

Como se observa las concentraciones altas demuestran un buen efecto sobre la inducción de los individuos tratados; sin embargo, la mayoría de estos autores reportan un nivel elevado de toxicidad por efecto de estas mismas, que trae como consecuencia mortandad en los organismos; tal es el caso de Gomelsky *et al*, 1994, quien reporta un 30% a un 45% de mortandad de los organismos tratados. Pandian y Sheela, 1995, enfatizan esta situación, ya que de acuerdo con ellos la mayoría de los esteroides sintéticos y algunos naturales en dosis muy elevadas, causan la muerte de los organismos y esto interviene de manera directa en la obtención de las poblaciones monosexo, debido a la sensibilidad que presentan las hembras o los machos tal sea el caso, por efecto de la dosificación. Al continuar con los trabajos relacionados a esta situación George y Pandian, 1995, al utilizar  $17\beta$ -estradiol sobre mollus *Poecilia sphenops*, en dosis de 200 y 300 mg/kg reporta mortandad del 30 al 35% que aunque más baja, comparada con la anterior, sigue influyendo en los resultados que se registran en cuanto a proporción sexual. Recientemente, Márquez, 1999, resalta el grado de toxicidad de las hormonas y la mortandad que estas pueden producir sobre los organismos tratados y de esta manera explica la utilización de concentraciones bajas de las sustancias en comparación con otros autores, y obtiene buenos resultados en cuanto a la supervivencia, inducción sexual, al reducir considerablemente los costos del tratamiento.

Como se observa, la mayoría de las dosis aplicadas por los autores mencionados, en comparación con las usadas para este trabajo, son muy altas, en promedio de 10 a 20 veces más para obtener entre el 90% y 100% de masculinización o feminización en un periodo entre 15 y 45 días. Por lo anterior, en la presente investigación se justifican las dosis utilizadas, ya que la mayoría de los organismos tratados resistieron, con un porcentaje de 96.66% de

sobrevivientes, de un total de 90 organismos con tratamiento, es decir la suma de los individuos de la dosis de 10 mg/kg más los de la de 15 mg/kg, y las muertes ocasionales fueron debidas a factores muy diferentes a la dosificación, esto es importante ya que en la dosis de 15 mg/kg, la más alta utilizada, solo 3 organismos murieron en comparación con 5 decesos en la dosis de 10 mg/kg y 1 del control, por lo que se puede afirmar que ninguna de las concentraciones es toxica para los peces.

Como dato adicional, cabe resaltar que al hacer la segunda revisión es decir a los 45 días después de finalizar el tratamiento, aunque se obtuvieron los mismos resultados en cuanto a la proporción sexual, se observó en el caso de la dosis de 15 mg/kg a dos machos (Figura 2) con una mayor talla y volumen, muy similar a la que presentan las hembras, pero con las características típicas de un macho, es decir color llamativo, la aleta caudal colorida, pero un poco más corta en comparación con los machos comunes, así como la presencia del órgano intromitente (gonopodio) bien definido. Lo anterior se respalda en el hecho de que la hormona, produce un efecto de ganancia en algunos caracteres biológicos en los peces con la dosis de 15 mg/kg, aunque no interviene en la inducción sexual y obtención de poblaciones monosexo.

Otro dato interesante fue que las hembras tratadas con la dosis de 10 mg/kg al finalizar el tratamiento, presentan preñes y aproximadamente 15 días después, para este mismo tratamiento un número 15 crías observadas; en cuanto al caso de la dosis de 15 mg/kg se presenta la misma situación, pero con un número mas alto en crías (20), pero en el caso del control, esta situación no se presentó. Esto es relevante porqué de acuerdo a algunos trabajos como el realizado por Baca 2002 y Márquez 1999; al hacer cortes histológicos de las gónadas de sus peces tratados, describen un efecto negativo en el desarrollo de éstas, que por consecuencia pueden traer consigo problemas relacionados con la reproducción de los organismos. Al comparar los trabajos anteriores con el presente, podemos decir que en el caso de los individuos tratados continuaron un desarrollo normal, en cuanto a su ciclo reproductivo o que el efecto de la hormona sobre los machos

no fue tan negativo como para poder intervenir en el proceso espermatogénico y que para el caso de las hembras esta sustancia puede estar actuando como un promotor de la fecundidad. Sin embargo, para observar estas situaciones de manera precisa, sería necesario llevar a cabo otro tipo de estudios sobre estos organismos. Lo anterior es importante de resaltar por que aunque los objetivos planteados no se dirigían directamente a buscar estas situaciones específicas, si son un efecto secundario de los tratamientos y la puerta hacia otras investigaciones, como por ejemplo el uso de esta hormona en lo que se refiere a la fecundidad de los organismos.

## CONCLUSIONES

El efecto sobre los caracteres biológicos longitud total, longitud de aleta caudal y peso es directamente proporcional a la concentración de la dosis del 17  $\beta$ -estradiol.

El 17  $\beta$ -estradiol en la dosis de 15 mg/kg durante los 45 días de tratamiento sobre las crías de 10 días de nacidos, actúa como promotor del crecimiento, en cuanto a los parámetros biológicos, longitud total, longitud de aleta caudal y peso, registrados durante la presente investigación.

Dada la nula mortalidad de los organismos se puede decir que las dosis utilizadas no son tóxicas y pueden beneficiar el buen estado fisiológico de los peces promoviendo un mejor aprovechamiento de sus recursos.

El colorido y vistosidad de los peces no fueron alterados significativamente por las dosis, manteniendo sus características comerciales que pueden ser obtenidas en un menor tiempo, reduciendo los costos de producción, debido al efecto de la hormona sobre el crecimiento en dosis de 15 mg/kg.

Las dosis utilizadas en este trabajo no promueven la inducción sexual ni la obtención de poblaciones monosexo en los organismos durante el tratamiento, debido a la baja concentración de estas comparadas con las de otros autores.

Este trabajo es un aporte importante, debido a los resultados obtenidos ya que nos permiten dar la pauta a nuevas líneas de investigación y que complementariamente enriquecen algunos aspectos, no sólo a nivel científico si no también a nivel de la acuicultura y la actividad acuarofílica.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA.

- | Alvarez del Villar j., 1970, Peces mexicanos, Secretaría de Industria y Comercio, Comisión Nacional Consultiva de Pesca e industrias Conexas, Ins. Nac. de Investigaciones Biológico Pesqueras, México, 166p.
- | Baca R. M., 2002, Estudio de las gónadas de crías de *Xiphophorus helleri* tras la administración de Dietiletilberstrol en la dieta. UNAM Campus Iztacala, Tesis de Licenciatura en Biología, México.
- | Bayley M., Nielsen J. R. and Baatrup E., 1999, Guppy Sexual Behavior as an Effect Biomarker of Estrogen Mimics, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 43:68-73.
- | Chaumont H., 1991, Guía de los peces de acuario, Ediciones OMEGA, España.
- | Duran D. A., Fernández A. M., García V. R., Gersenowies R. J., Meráz M. S., Robelo M. A. y Vargas V. A., 1984, Manual de técnicas estadísticas. UNAM, FES Iztacala, Edo. México.
- | Fuentes P. J.A., 1998, Uso de la hormona 17  $\alpha$ -metilttestosterona en la obtención de poblaciones monosexo en peces cola de espada *Xiphophorus helleri* (POECILIDAE), UNAM Campus Iztacala, Tesis de Licenciatura en Biología, México.
- | Gannam A.L. and Lovell R.T., 1991, Effects of feeding 17  $\alpha$ -methylstosterona, 11-ketotestosterona, 17  $\beta$ -estradiol, y 3,5,3'-triiodothyronine to channel catfish, *Ictarus punctatus*. *Aquaculture* 92:377-388.
- | Geary N. and Asarian L., 1999, Cyclic estradiol treatment normalizes body weight and test meal size in ovariectomized rats, *Physiology and Behavior*, 67:141-147.

- | George T. and Pandian T.J., 1995, Production of ZZ females in the female heterogametic black molly, *Poecilia sphenops*, by endocrine sex reversal and progeny testing, Aquaculture 136:81-90.
- | Golmensky B., Cherfas N., Peretz J., Ben-DomN. and Hulata G., 1994, Hormonal sex inversion in the common carp (*Cyprinus carpio* L., Aquaculture 126: 265-270.
- | Graham S. and Fryhle C., 2000, Organic Chemistry, 7th edition, WILEY, USA.
- | Guerrero III, R.D. 1975, Use of androgen for the production of males *Tilapia aurea* (Steindachner). Trans. Am. Fish. Soc. 104:324-348.
- | Harper H. A., 1988, Bioquímica, Editorial Manual Moderno, S. A., México.
- | Hunter G. A. and Donalson E. M., 1983, Hormonal sex control and its application fish culture, In: The Fish physiology Vol. IX B (Hoar W. S., Randal J. D. editors) Academic New York.
- | Kavumpurath S. and Pandian T.J., 1993 Production of a YY female guppy *Poecilia reticulata* by endocrine sex reversal and progeny testing, Aquaculture 118: 183-189.
- | Lim B. H., Phang V.P. E. and Reddy P. K., 1992, The effects of short-term treatment of 17  $\alpha$ -methyltestosterona and 17  $\beta$ -estradiol on growth and sex ratio in the red variety of swortail, *Xiphophorus helleri*, J. Aqua. Trop., 7:267-274.
- | Marquez E. A.F., 1999, Inducción sexual en peces *Xiphophorus helleri* (POECILIDAE) a través de la administración de la 17  $\alpha$ -metilttestosterona y de Dietiletilbestrol en el alimento, UNAM Campus Iztacala, Tesis de Maestría en Ciencias, Biología, México.

- | Marquez E. A.F., Peña A. F., Fuentes P. J., 1994, Aplicación de las hormonas dietilestilbestrol y 17  $\alpha$ -metiltestosterona en la obtención de poblaciones monosexo en peces de ornato. IV Congreso Nacional de Ictiología. Morelia, Michoacán, México.
- | Melard C., 1995, Production of a high percentage of male offspring with 17  $\alpha$ -ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. I. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudofemales, Aquaculture 130: 25-34.
- | Mills D., 1991, Guía del acuario, Ediciones omega, Barcelona.
- | Mills D., 2000, You and Your Aquarium, Alfred A. Knopf, New York, USA, 2000.
- | Nacario F.J., 1983, The effect of tiroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (Tilapia Nilotica), Aquaculture, 34: 73-83.
- | Nava-Bautista, J. M. and Rodríguez-Gutierrez M., 1997, Effect of 17  $\alpha$ -methyltestosterona and vitamin B complex on sexual reversion induction of the development stages of *Xiphophorus helleri*, Heckel, 1848 (Pisces: Poeciliidae). J. Aqua. Trps, 12(1):65-71.
- | Nelson J., 1994, Fishes of the world, Ed. Wiley and Sons, Canada, 273 p.
- | Noteolovitz M., 2002, Androgen effects on bone and muscle, Fertility and Esterility, 77(4):34-41.
- | Pandian T.J. and Sheela S.G., 1995, Hormonal induction of sex reversal in fish, Aquaculture 138:1-22.
- | Peña A. F., 1996, Obtención de una población monosexo (hembras) de *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848) mediante la administración de dietilestilbestrol en el alimento a hembras grávidas. Tesis de Licenciatura. UNAM Campus Iztacala México.



- | Peter R.E, and Chang P.J., 1999, Brain regulation of growth hormone secretion and food intake in fish, Neural Regulation in the Vertebrate Endocrine System, Plenum Publishers, New York, pages 55-67.
- | Piferrer F. and Chum-Lim L., 1997, Application of sex reversal technology in ornamental fish culture, Aquarium Sciences and conservation 1: 113-118.
- | Saillant E., 2001, Sexual growth dimorphism in sea bass *Dicentrarchus labrax*, Aquaculture, 202(3-4):371-387.
- | Salam A. A. and Ronald P. P., 1997, Sex reversal in black crappie *Pomoxis nigromaculatus*: effect of oral administration of 17  $\alpha$ -methyltestosterona on two age classes. Aquaculture 158:155-165.
- | Santandreu I. A. and Díaz F.N., 1994, Effect of 17  $\alpha$ -methyltestosterona on growth and nitrogen excretion in masu salmon *Oncorhynchus masou* Brevoort. Aquaculture. 124:321-333.
- | Shelbourn J. E., Clarke C. W., McBride R. J. Fagerlund M. H. and Donalson M. E., 1992, The use of 17  $\alpha$ -methyltestosterona and 3,5,3'-triiodo-L-thyronine for sterilizing and accelerating the growth of zero-age coho salmon smolts *Oncorhynchus kisutch*, Aquaculture, 103:85-99.
- | Takahashi H., 1975, Functional feminization of genetic males of the Guppy *P. reticulata* estrogen after birth, Bull. Fac. Fish Hokkaido Univ.
- | Toft G. and Baatrup E., 2001, Sexual Characteristics Are Altered by 4-tert-octyphenol and 17  $\beta$ -estradiol in the Adult Male Guppy, Ecotoxicology and Environmental Safety, 48:76-84.
- | Wheaton, F. W., 1982, Acuacultura diseño y construcción de sistemas, AGT Editor, S. A., México, p. 123.

## BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.

- | Axelrod R. H. y Vorderwinkler W., 1984, Peces tropicales en el hogar, editorial C.E.C.S.A., México.
- | Botello C. A., 2002, Estudio de algunos aspectos reproductivos en *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae) del lago del Parque Tezozomoc, Azcapotzalco, UNAM Campus Iztacala, Tesis de Licenciatura en Biología, México.
- | García B. D., 2001, Evaluación del crecimiento de tres especies de poecílicos (*P. reticulata*, *P. sphenops*, *X. helleri* . y determinación de la producción de crías en estanquería con aguas tratadas. Tesis (Biol.) ENEPI-UNAM. 75 p.
- | Jerking B., Jonhsen K., Storebakken T. and Nilssen K., 1999, Influence of 11-ketotestosterona, 17  $\beta$ -estradiol, y 3,5,3'-triiodo-L-thyronine on distribution and metabolism of carotenoides in Atrtic Charr, *Salvelinus alpinus* L. Fish Physiology and Biochemistry. 21:353-364.
- | Mendiola G. E., 2003, Efecto del citrato de clomifeno sobre la fecundación en *Poecilia reticulata*. UNAM Campus Iztacala, Tesis de Licenciatura en Biología, México.
- | Mills D., 1996, Aquarium Fish 101 essential tips, DK Publishing, inc., USA.
- | Nikolski G.V., 1963, The Ecology of fishes. Edit. Academy Press. London, 160 p.
- | Norris O. D., 1997, Vertebrate Endocrinology, Academic Press, E.U. Colorado, 634 pags.
- | Phelps R.P. and Al-ablani S.A., 1997, Sex reversal in black carppie *Pomoxis nigrumaculatus*: effect of oral anministration of 17  $\alpha$ -methyltestosterona on two age classes, Aquaculture 158:155-165.

- | Salazar M. E., 1981, Contribución al conocimiento de la biología de *Girardinichthys innominatus* Bekler, 1860 (Pises:Goodeidae) del embalse Reguena, Edo. de Hidalgo, Tesis (Biol.), ENEPI-UNAM. 62 p.
- | Schafhauser-Smith D. and T. J. Benfey., 2003, The effects of long-term 17  $\beta$ -estradiol treatment on the growth and physiology of female triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*), General and Comparative Endocrinology,31(1):9-20.
- | Terrón R. A. A., 1994, Estudio biológico de *Girardinichthys viviparus* (Pises:Goodeidae), en el embalse la Goleta, Edo. de Méx., Tesis (Biol.) ENEPI-UNAM. 55 p.

## ANEXO.

Anexo 1.

### CARACTERIZACIÓN DE LA ESPECIE

Phylum: Chordata  
Subphylum: Craniata  
Infraphylum: Vertebrata  
Clase: Actinopterygii.  
Subclase: Neopterygii  
División: Teleostei  
Subdivisión: Euteleostei  
Superorden: Acanthopterygii  
Serie: Antherinomorpha  
Orden: Cyprinodontiformes  
Suborden: Cyprinodotoidei  
Familia: Poeciliidae  
Género: *Poecilia*  
Especie: *Pecilia reticulata* (Peters, 1859).  
Nombre común: Guppy

Tomado de Nelson, 1994 hasta familia, genero y especie tomado Álvarez, 1970.

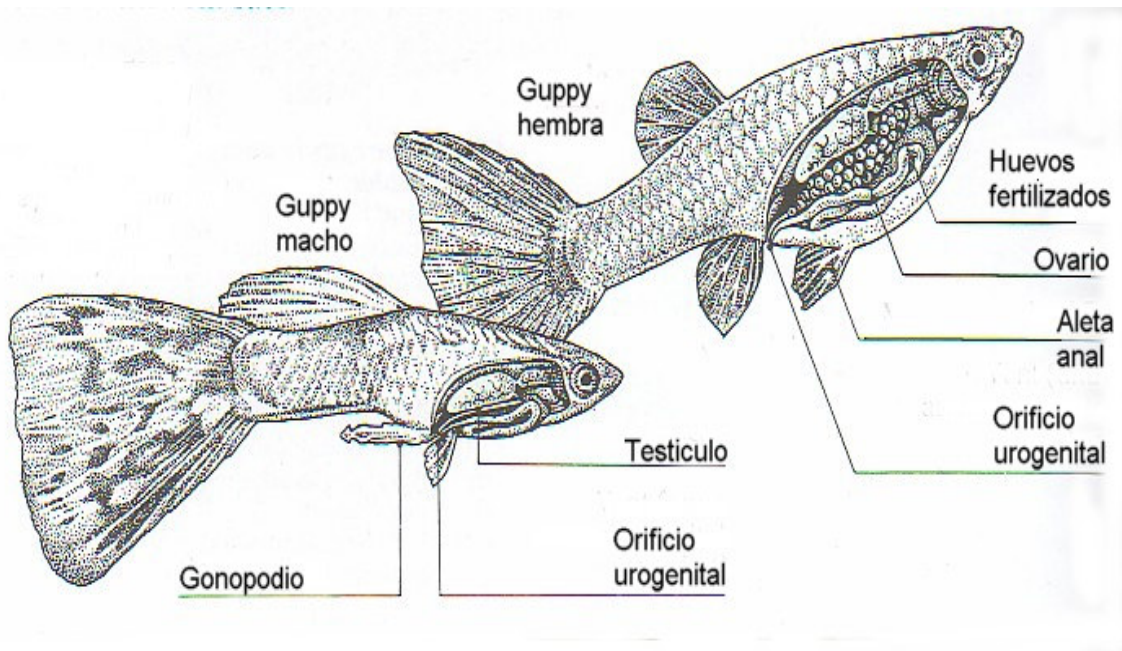


Figura 3. Pareja de guppys (*Pecilia reticulata*). (Mills, 2000).

Se distribuyen desde la Cuenca del Amazonas, Venezuela, Trinidad, isla Leeward, Guayanas, norte de Brasil y Barbados. Son peces devoradores de larvas de insectos, en particular de mosquitos. Este apetito ha sido muy explotado por el hombre, que los ha introducido en numerosas regiones infestadas por estos insectos con el fin de controlar el desarrollo de sus poblaciones. Así, la distribución actual sobrepasa mucho la original.

El tamaño de estos organismos se encuentra entre los 2.5-3 cm para los machos, y 5-6 cm para las hembras. Este pez es muy popular y fue importado por primera vez a Europa en 1860 por el doctor Robert John Lechmere Guppy, cuyo nombre se convirtió en el apelativo común del pez. Esta especie polimorfa ofrece unas variaciones considerables de libres formas. La inmensa variedad de colores se obtuvo en el transcurso de pacientes selecciones. El guppy salvaje, efectivamente está poco coloreado y sus aletas están visiblemente menos desarrolladas que en los individuos actuales, los guppys se clasifican en los concursos según la forma de sus aletas caudales. Se pueden distinguir algunas formas importantes, como la cola redonda, la espada alta y la espada baja, la doble espada, la cola de recogedor o paleta, el ala delta, la cola de lira, la cola de vela etc. Las hembras son menos brillantes y sus aletas están poco desarrolladas comparándolas con las de los machos. Estos últimos presentan aletas caudales muy variadas. No hay dos guppys machos parecidos (Axelrod 1970). Estos peces son muy resistentes a diferentes condiciones ambientales además de ser muy sociables y pacíficos con otras especies en un mismo acuario. No hay ninguna exigencia particular referente a la composición del agua. Los guppys, en su biotopo natural, se encuentra en aguas ligeramente alcalinas y medianamente duras. Frecuentan a veces los estuarios de los grandes ríos. En cautiverio se habitúan a toda clase de medios, desde el agua dulce de los acuarios poblados de peces ángel hasta los acuarios tropicales marinos. El paso de un acuario de agua dulce a otro de agua marina debe hacerse progresivamente, añadiendo agua de mar en pequeñas cantidades. La temperatura varía de 20 a más de 30 grados centígrados. Es un pez omnívoro, con preferencia a las larvas de mosquitos, y acepta todo tipo de alimentos en cautiverio.

*Poecilia reticulata* es ciertamente una de las especies más prolíficas. Los guppys son ovoviviparos, y la hembra fecundada lleva a los pequeños durante una gestación que puede durar de 4-6 semanas, según la temperatura. A los 24 grados centígrados, la gestación dura 30 días. Es mucho más rápida si se eleva la temperatura. Una hembra adulta es capaz de engendrar de 50 a 100 crías en cada alumbramiento. Los alevines son sexualmente maduros a la edad de 3 meses. Si se crían guppys con fines ornamentales es importante no cruzar a organismos consanguíneos. A los tres meses de edad, los machos se distinguen por la presencia del gonopodio órgano intromitente copulador constituido por la modificación de los radios de la aleta anal, y la diferenciación de los sexos es fácil se recomiendan los acoplamientos a los 6 meses.(Chaumenton H., 1991).

## Anexo 2. Pruebas estadísticas ANOVA y Tukey, para la longitud total.

### LONGITUD TOTAL

Summary of all Effects; design: (datos.sta) p<0.05

1-VAR1, 2-VAR2

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
1	2	71.501	521	2.688478	26.5953	.000000
2	3	1702.831	521	2.688478	633.3811	0.000000
12	6	4.509	521	2.688478	1.6772	.124422

1= Tratamiento

2= Tiempo

df= grados de libertad

MS= suma de cuadrados

Effect= tratamiento

Error= error

Tukey HSD test; variable VAR3 (datos.sta)

Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: VAR1

	{1}	{2}	{3}
	16.97086	17.94444	16.75960
1 .... {1}		.000022	.447005
2 .... {2}	.000022		.000022
3 .... {3}	.447005	.000022	

Tukey HSD test; variable VAR3 (datos.sta)

Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: VAR2

	{1}	{2}	{3}	{4}
	12.72222	16.34815	18.72261	21.10688
.... 0 {1}		.000008	.000008	.000008
.... 15 {2}	.000008		.000008	.000008
.... 30 {3}	.000008	.000008		.000008
.... .... 45 {4}	.000008	.000008	.000008	

Anexo 3. Pruebas estadísticas ANOVA y Tukey, para la longitud de aleta caudal.  
**LONGITUD DE ALETA CAUDAL**

Summary of all Effects; design: (datos.sta)

1-VAR1, 2-VAR2

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
1	2	7.2492	521	.336804	21.5235	.000000
2	3	291.0399	521	.336804	864.1216	0.000000
12	6	.8004	521	.336804	2.3764	.028318

Tukey HSD test; variable VAR4 (datos.sta)

Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: VAR1

	{1}	{2}	{3}
	<u>3.879993</u>	<u>4.205555</u>	<u>3.837753</u>
1 .... {1}		.000022	.773003
2 .... {2}	.000022		.000022
3 .... {3}	.773003	.000022	

Tukey HSD test; variable VAR4 (datos.sta)

Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: VAR2

	{1}	{2}	{3}	{4}
	<u>2.151852</u>	<u>3.496296</u>	<u>4.701221</u>	<u>5.548365</u>
.... 0 {1}		.000008	.000008	.000008
.... 15 {2}	.000008		.000008	.000008
.... 30 {3}	.000008	.000008		.000008
.... 45 {4}	.000008	.000008	.000008	

Tukey HSD test; variable VAR4 (datos.sta)

Probabilities for Post Hoc Tests

INTERACTION: 1 x 2

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}
	<u>2.077778</u>	<u>3.266667</u>	<u>4.627907</u>	<u>5.547619</u>	<u>2.266667</u>	<u>3.777778</u>	<u>5.066667</u>	<u>5.711111</u>	<u>2.111111</u>	<u>3.444444</u>	<u>4.409091</u>	<u>5.386364</u>
1 0 {1}		.000017	.000017	.000017	.928357	.000017	.000017	.000017	1.000000	.000017	.000017	.000017
1 15 {2}	.000017		.000017	.000017	.000017	.001777	.000017	.000017	.000017	.952745	.000017	.000017
1 30 {3}	.000017	.000017		.000017	.000017	.000017	.020187	.000017	.000017	.000017	.840539	.000017
1 45 {4}	.000017	.000017	.000017		.000017	.000017	.006306	.977669	.000017	.000017	.000017	.980766
2 0 {5}	.928357	.000017	.000017	.000017		.000017	.000017	.000017	.982631	.000017	.000017	.000017
2 15 {6}	.000017	.001777	.000017	.000017	.000017		.000017	.000017	.000017	.214001	.000034	.000017
2 30 {7}	.000017	.000017	.020187	.006306	.000017	.000017		.000025	.000017	.000017	.000022	.280400
2 45 {8}	.000017	.000017	.000017	.977669	.000017	.000017	.000025		.000017	.000017	.000017	.257556
3 0 {9}	1.000000	.000017	.000017	.000017	.982631	.000017	.000017	.000017		.000017	.000017	.000017
3 15 {10}	.000017	.952745	.000017	.000017	.000017	.214001	.000017	.000017	.000017		.000017	.000017
3 30 {11}	.000017	.000017	.840539	.000017	.000017	.000034	.000022	.000017	.000017	.000017		.000017
3 45 {12}	.000017	.000017	.000017	.980766	.000017	.000017	.280400	.257556	.000017	.000017	.000017	



## Anexo 4. Pruebas estadísticas ANOVA y Tukey, para el peso. PESO

Summary of all Effects; design: (datos.sta)

1-VAR1, 2-VAR2

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
1	2	.003308	521	.000419	7.8967	.000418
2	3	.100900	521	.000419	240.8796	0.000000
12	6	.000449	521	.000419	1.0711	.378665

Tukey HSD test; variable VAR5 (datos.sta)

Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: VAR1

		{1}	{2}	{3}
		<u>.0477219</u>	<u>.0529994</u>	<u>.0444852</u>
1	.... {1}		.040149	.297829
2	.... {2}	.040149		.000261
3	.... {3}	.297829	.000261	

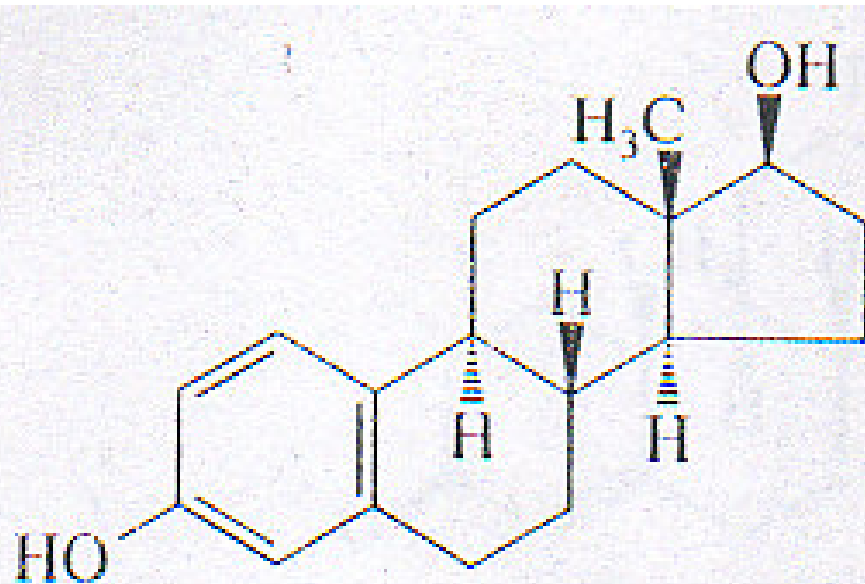
Tukey HSD test; variable VAR5 (datos.sta)

Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: VAR2

		{1}	{2}	{3}	{4}
		<u>.0196185</u>	<u>.0353830</u>	<u>.0549935</u>	<u>.0836138</u>
....	0 {1}		.000008	.000008	.000008
....	15 {2}	.000008		.000008	.000008
....	30 {3}	.000008	.000008		.000008
....	45 {4}	.000008	.000008	.000008	

Anexo 5. Composición química de la hormona 17  $\beta$ -estradiol (Graham, 2000).



**Estradiol**  
[1,3,5(10)-estra-  
triene-3,17 $\beta$ -dio!]

Anexo 6. Muestra la síntesis de la hormona 17  $\beta$ -estradiol. (Tomado de Harper, 1988).

