



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

POSGRADO EN CIENCIAS

BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

Manejo del cultivo comercial de *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848  
(Pisces: Poeciliidae) a través de la producción de poblaciones  
monosexo por el uso de esteroides

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)

P R E S E N T A

BIÓL. SAMUEL MARAÑÓN HERRERA

DIRECTOR: DR. JOSÉ LUIS ARREDONDO FIGUEROA

MÉXICO, D. F.

MARZO 2007



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.

A MIS QUERIDOS HIJOS

*Mariana Isabel y José Alonso*

Con todo el cariño y agradecimiento que su padre les puede brindar

A MIS PADRES

*Pepito y Cirita*

Que con palabras no podría agradecerles todo lo que me han  
dado

A MI ESPOSA

*Yolanda*

Por su apoyo incondicional y su cariño

A MIS HERMANAS

*Rosario y Raquel*

Que a pesar de estar distantes siempre están en mi  
corazón

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. José Luis Arredondo Figueroa, con mi profunda admiración, por haber dirigido la presente tesis, compartir su conocimiento y por dedicarme el tiempo suficiente para llevar a buen termino el presente documento.

Al Dr. Héctor Jaime Salgado Zamora, por haberme proporcionado los esteroides probados y por su valiosa aportación a la tesis.

Al M. en C. Mario Alfredo Fernández Araiza, por la revisión de la tesis y por ser parte de mi Comité Tutorial.

Al M. en C. María Estela Pérez Cruz, por la revisión de la tesis y por ser parte de mi Comité Tutorial.

Al M. en C. Arturo Aguirre León, por sus valiosos comentarios y por ser parte de mi Comité Tutorial.

- ★ A la facultad de Ciencias y todos sus catedráticos que compartieron conmigo todos sus conocimientos.
- ★ A la Universidad Autónoma Metropolitana de la Unidad Xochimilco que me proporcionó los medios para realizar el presente documento.
- ★ A todos mis amigos y compañeros de la UAM, que no me atrevo a poner un solo nombre por no herir susceptibilidades.
- ★ A Julio Cesar Hernández y Ana Maturano, ya que sin ellos no hubiera sido posible la realización del presente documento.

## INDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. ANTECEDENTES.....</b>	<b>5</b>
<b>III. BIOLOGÍA DE LA ESPECIE.....</b>	<b>8</b>
1. Clasificación taxonómica.....	8
2. Distribución geográfica.....	9
3. Descripción del pez cola de espada.....	9
4. Diferenciación sexual.....	10
5. Reproducción.....	12
6. Papel de las células germinales.....	12
7. Determinación genética del sexo y diferenciación sexual.....	13
8. Determinación del sexo controlada por factores ambientales.....	14
<b>IV. EL PAPEL DE LOS ESTEROIDES.....</b>	<b>16</b>
1. Esteroides sexuales.....	17
1.1. <i>Andrógenos</i> .....	17
1.2. <i>Estrógenos</i> .....	18
2. Anabólicos.....	18
3. Mecanismos de acción de las hormonas.....	19
4. Andrógenos propuestos.....	20
4.1 <i>17<math>\alpha</math>-Metiltestosterona</i> .....	20
4.2 <i>Acetato de Trembolona</i> .....	21
4.3 <i>19-Norandrostendiona</i> .....	22
4.4 <i>Norgestrel</i> .....	23
<b>V. DESCRIPCIÓN DE LA GRANJA DE REFERENCIA.....</b>	<b>25</b>
<b>VI. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>26</b>
1. Objetivos particulares.....	26

<b>VII. MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
1. La unidad de producción .....	27
2. Primer trabajo experimental .....	28
<i>Origen de los juveniles</i> .....	28
<i>Diseño experimental</i> .....	28
<i>Condiciones experimentales</i> .....	29
<i>Preparación del alimento</i> .....	29
<i>Evaluación de la proporción sexual</i> .....	29
<i>Evaluaciones morfométricas</i> .....	29
<i>Análisis estadístico</i> .....	30
<i>Estimación del crecimiento</i> .....	30
<i>Evaluación económica</i> .....	31
3. Segundo trabajo experimental.....	31
<i>Origen de los juveniles</i> .....	31
<b>VIII. RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
1. La unidad de producción .....	33
<i>Calidad del agua</i> .....	33
<i>Parámetros biológicos</i> .....	34
Sobrevivencia .....	34
Proporción de sexos.....	35
2. Primer experimento.....	37
<i>Sobrevivencia</i> .....	39
<i>Proporción de sexos</i> .....	40
<i>Indicadores del crecimiento</i> .....	40
<i>Peces intersexuales</i> .....	44
<i>Modelos de crecimiento</i> .....	45
<i>Beneficio económico</i> .....	53
3. Segundo experimento.....	55
<i>Sobrevivencia</i> .....	55
<i>Proporción de sexos</i> .....	56
<i>Indicadores de crecimiento</i> .....	57
<i>Peces intersexuales</i> .....	61

<i>Modelos de crecimiento</i> .....	62
<i>Beneficio económico</i> .....	68
<b>IX. DISCUSIÓN</b> .....	<b>70</b>
1. La unidad de producción .....	72
1.1. Calidad del agua.....	73
1.2. Parámetros biológicos.....	74
2. Laboratorio (Primer experimento).....	76
2.1. Condiciones experimentales .....	76
2.2. Evaluación parcial (60 días) .....	77
2.3. Evaluación definitiva (135 días) .....	78
<i>Sobrevivencia</i> .....	79
<i>Masculinización</i> .....	79
<i>Crecimiento</i> .....	81
<i>Modelos de crecimiento</i> .....	82
<i>Peces intersexuales</i> .....	84
<i>Beneficio económico</i> .....	87
2.4 Recapitulación.....	90
3. Laboratorio (Segundo experimento).....	92
<i>Sobrevivencia</i> .....	92
<i>Masculinización</i> .....	92
<i>Crecimiento</i> .....	95
<i>Modelos de crecimiento</i> .....	97
<i>Beneficio económico</i> .....	99
4. Perspectivas.....	100
<b>X. CONCLUSIÓN</b> .....	<b>103</b>
<b>XI. LITERATURA CITADA</b> .....	<b>105</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros morfométricos de <i>X. helleri</i> al finalizar la aplicación de las distintas dosis de esteroides, durante 60 días (promedio $\pm$ desviación estándar). .....	37
Tabla 2. Parámetros morfométricos de <i>X. helleri</i> al finalizar el experimento de la aplicación de esteroides, durante 135 días (promedio $\pm$ desviación estándar). .....	41
Tabla 3. Parámetros morfométricos de los peces intersexuales de <i>X. helleri</i> al finalizar el experimento (promedio $\pm$ desviación estándar). .....	45
Tabla 4. Parámetros de los modelos de crecimiento de <i>X. helleri</i> estimados a partir de la aplicación de distintas dosis de esteroides.....	37
Tabla 5. Parámetros morfométricos de <i>X. helleri</i> al finalizar el experimento de la aplicación de Norgestrel, durante 135 días (promedio $\pm$ desviación estándar).....	58
Tabla 6. Parámetros morfométricos de los peces intersexuales al finalizar la aplicación del Norgestrel en las edades: 5, 18 y 24 días (promedio $\pm$ desviación estándar). .....	61
Tabla 7. Parámetros de los modelos de crecimiento de <i>X. helleri</i> debido a la edad y dosis del esteroide Norgestrel. ....	62
Tabla 8. Comparación del beneficio económico en <i>X. helleri</i> .....	89
Tabla 9. Eficiencia de los esteroides analizados en <i>X. helleri</i> . .....	90
Tabla 10. Anabólicos comerciales utilizados en la industria pecuaria .....	91
Tabla 11. Beneficio económico de <i>X. helleri</i> a distintas dosis de Norgestrel y edad de aplicación sobre el precio comercial, considerando el valor de los peces intersexuales. ....	99



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Pez cola de espada, <i>X. helleri</i> , ejemplar silvestre masculino. ....	10
Figura 2. Diferenciación sexual de <i>X. helleri</i> . ....	11
Figura 3. Esqueleto ciclopentanoperhidrofenantreno .....	16
Figura 4. Estructura molecular de 17 $\alpha$ -Metiltestosterona .....	21
Figura 5. Estructura molecular del Acetato de Trembolona.. ....	22
Figura 6. Estructura molecular del 19-Norandrostendiona .....	23
Figura 7. Estructura molecular del Norgestrel .....	24
Figura 8. Localización geográfica del municipio de Jiutepec, Morelos .....	25
Figura 9. <i>X. helleri</i> , variedad roja, sujeto de experimentación en el presente trabajo .....	28
Figura 10. Calidad del agua en la unidad de producción "Avalón". ....	33
Figura 11. Efecto de la estación climática en la sobrevivencia de <i>X. helleri</i> .....	35
Figura 12. Distribución de sexos por estación climática .....	35
Figura 13. Eficacia de los esteroides en la sobrevivencia .....	39
Figura 14. Eficacia de los esteroides en la masculinización.....	40
Figura 15. Efecto de los esteroides en la talla .....	41
Figura 16. Efecto de los esteroides sobre el peso .....	42
Figura 17. Efecto de los esteroides sobre la altura .....	43

Figura 18. Ejemplar intersexual de <i>X. helleri</i> .....	44
Figura 19. Efecto del Acetato de Trembolona en el crecimiento.....	48
Figura 20. Efecto del 17 $\alpha$ -Metiltestosterona en el crecimiento .....	49
Figura 21. Efecto del Norgestrel en el crecimiento .....	50
Figura 22. Efecto del 19- Norandrostendiona en el crecimiento... ..	51
Figura 23. Efecto de los esteroides sobre el crecimiento de <i>X. helleri</i> .....	52
Figura 24. Efecto de los esteroides sobre el precio comercial. ....	53
Figura 25. Efecto del Norgestrel sobre la sobrevivencia, aplicado a tres distintas edades .....	55
Figura 26. Efecto del Norgestrel sobre la masculinización, aplicado a tres distintas edades ...	56
Figura 27. Presencia de peces intersexuales debido al Norgestrel y la edad .....	57
Figura 28. Efecto del esteroide Norgestrel sobre la talla, aplicado a tres distintas edades .....	59
Figura 29. Efecto del esteroide Norgestrel sobre el peso, aplicado a tres distintas edades .....	60
Figura 30. Efecto del esteroide Norgestrel sobre la altura , aplicado a tres distintas edades....	61
Figura 31. Crecimiento de las hembras .....	65
Figura 32. Efecto de la dosis de 30mg/kg de Norgestrel y la edad .....	66
Figura 33. Efecto de la dosis de 50mg/kg de Norgestrel y la edad .....	67
Figura 34. Comparación del crecimiento .....	68
Figura 35. Evaluación comercial de los tratamientos sobre el precio comercial .....	69

## I. INTRODUCCIÓN

Los peces de la familia Poeciliidae, son ampliamente utilizados como sujetos de experimentación para analizar los mecanismos relacionados con la determinación del sexo, debido a su facilidad de manejo, mantenimiento y reproducción en el laboratorio, así como la presencia de un marcado dimorfismo sexual y el tener un ciclo biológico corto (Hunter y Donaldson, 1983). El pez cola de espada, *Xiphophorus helleri*, es un buen ejemplo de lo anterior.

La inversión sexual ha sido utilizada para investigar los mecanismos relacionados con la determinación del sexo y la diferenciación de las gónadas en los peces (Yamamoto, 1969; Takahashi, 1974; Pandian y Sheela, 1995). Al mismo tiempo, es una herramienta útil para aumentar los beneficios derivados de la acuicultura, ya que las poblaciones monosexo presentan características que incrementan el rendimiento (Green *et al.*, 1997). La plasticidad del desarrollo sexual de los peces, permite que se pueda manipular la diferenciación sexual, a pesar de que el sexo del organismo está determinado genéticamente; de esta forma, se puede inducir el desarrollo de las gónadas hacia un sexo en particular. La flexibilidad o capacidad que tienen las células germinales de los peces para diferenciarse en ovocitos o espermatoцитos constituyen un factor clave para la inducción del sexo (Fitzpatrick *et al.*, 1993).

Los caracteres sexuales secundarios de *Xiphophorus helleri* se encuentran ligados al sexo y su manifestación se refleja en el crecimiento, el color del cuerpo, la forma y el tamaño de las aletas de los organismos. Desde el punto de vista comercial, estas diferencias determinan que el macho sea más apreciado y por consiguiente sea mejor cotizado en el mercado, ya que sólo los machos desarrollan la aleta caudal en forma de espada y su cuerpo presenta una forma hidrodinámica, además de una coloración más intensa, en comparación con las hembras, cuyo cuerpo es más robusto y opaco (Dawes, 1991; Lim *et al.*, 1992). Por la razón anterior, una estrategia de producción en el pez cola de espada sería la de producir poblaciones monosexuales de machos.

Paradójicamente estas vistosas características que los machos poseen, son una desventaja en las poblaciones silvestres de Poecílicos, ya que es común que el número de hembras

predomine (Snelson y Wetherington, 1980), incluso se incrementa su proporción debido a la presión de selección que la depredación ejerce sobre los machos, al resultar más atractivos que las hembras (Endler, 1995). La proporción de sexos es una respuesta a la presión del ambiente y en combinación con la selección natural, se promueve la sobrevivencia en favor del sexo con mayores ventajas (Trivers y Willard, 1973; Charnov y Bull, 1977; Conover y Kynard, 1981).

El pez espada es una especie autóctona de amplia distribución en el país (Dawes, 1991) y uno de los peces de ornato más ampliamente cultivado en las granjas piscícolas (SEMARNAP, 1996; Martínez *et al.*, 2004). Además, su comercialización en el país coincide con una tendencia a escala internacional, ya que Singapur el mayor exportador de peces de ornato del mundo, estableció una estrategia de comercialización desde la década de los ochenta y desde entonces los Poecílidos han sido el pilar de la producción (Fernando y Phang, 1985; Bassler, 1994); siendo *X. helleri* una de las especies más destacadas por su volumen de producción y por la cantidad de divisas que genera (Lim *et al.*, 1992). Contradictoriamente, la información disponible relacionada con la manipulación del sexo de *X. helleri* es escasa, o bien no es reportada por tener una connotación de carácter comercial.

La piscicultura de ornato en México es reciente y emerge como una ocupación de importancia económica durante los ochenta, pero en la siguiente década es cuando se transforma en una actividad trascendental, al presentarse dos eventos que influyeron en la producción de peces de ornato en el país: la devaluación del peso en diciembre de 1994 y el surgimiento de una economía contraída (Martínez *et al.*, 2004). Se considera que en 1993, México importó más de nueve millones de peces con un valor de 6, 430 millones de pesos y durante el año de 1994 las importaciones ascendieron a más de diez millones de peces cuyo valor representó 9, 478 millones de pesos (INEGI, 1998). De acuerdo a los registros del Banco de México, en 1996 se importó un volumen de más de un millón de peces, durante los meses de enero a abril.

En contraste, se estima en el mercado nacional el 80% de las existencias de peces de ornato eran de origen extranjero, hasta antes de la devaluación de la moneda (Menéndez, 1990). El impacto de la restricción económica, en la importación de peces fue inmediato, ocasionando una marcada disminución en la demanda. Esta situación forzó un deslizamiento

favorable para la actividad acuacultural nacional, mediante un incremento en la producción de peces de ornato.

Otros indicadores emergentes que muestran el acelerado desarrollo de la piscicultura de ornato, a partir del último lustro de la década de los noventa, es la aparición de nuevas unidades de producción en un tiempo relativamente corto en el estado de Morelos, que es el mayor productor del país (Martínez *et al.*, 2004), el cual tenía registrado 12 granjas para 1993 (Sánchez, 1994) incrementándose a 32 para 1997 y 42 para 2002, según los registros de la Asociación de Productores de Peces de Ornato del Estado de Morelos (APPOEM); mientras que la SAGARPA registró 67 granjas (SEMARNAP, 2002).

La situación actual de la producción de peces de ornato en el país, es desconocida en términos de referencias oficiales. La ausencia de registros confiables sobre la cantidad de peces de ornato que se comercializan, el capital que representa, la contribución tributaria y el número de personas dependientes de la actividad hace imposible un análisis objetivo de esta actividad.

Lo anteriormente expuesto, sirve para señalar la existencia de una industria poco conocida con un alto potencial económico y con implicaciones éticas, ya que en el ámbito de esta actividad (productores, distribuidores y comerciantes) es sabido que los altos niveles de producción de los países orientales, son mantenidos mediante el empleo de hormonas en los peces. Incluso, Pelissero y Sumpter (1992) mencionan que el empleo de esteroides en las granjas comerciales, a nivel internacional, es una práctica cotidiana. México no es ajeno a este manejo, ya que los productores locales pueden adquirir alimento comercial, sobre pedido, que tenga incluido el esteroide  $17\alpha$ -metiltestosterona, como es el caso de Alimentos Balanceados Pedregal®, que algunos productores nacionales adquieren con el objetivo de masculinizar a los peces o para promover una mayor asimilación del alimento. Peor aún, otros piscicultores agregan al alimento de los peces, esteroides en presentaciones comerciales (farmacéuticas) como el Ovral 21®, que contiene norgestrel, o el Stenox®, que incluye fluoximesterona. Sin embargo, en México no existen datos oficiales del uso de los esteroides, pero se sabe que son usados en la producción avícola, bovina, porcina y en general en la industria pecuaria.

La ausencia de una legislación sanitaria, que permita normar el uso de esteroides en la incipiente producción piscícola nacional es manifiesta, situación que difiere de lo que sucede en el vecino país del norte, Estados Unidos, en donde el manejo de esteroides en la industria pecuaria ha sido ampliamente documentado, proporcionando grandes incrementos en la producción de carne y en la generación de información sobre el destino de los químicos introducidos de manera artificial en un organismo; al mismo tiempo, se han establecido normas de seguridad mínimas para la venta y consumo de los organismos manipulados (Hoffman y Evers, 1986). A pesar de lo anterior, la información generada en el citado país sobre la aplicación de esteroides en peces no es satisfactoria, menos aún en los empleados en la piscicultura de ornato.

Desde una perspectiva operativa, se considera a la piscicultura de ornato como un proceso biológico que produce valor a partir de la introducción de técnicas, métodos y fuerza de trabajo (Poulantzas, 1976), con el propósito de orientar la producción para incrementar el rendimiento, lo cual permite mejorar significativamente la relación costo-beneficio para la obtención de una mayor ganancia económica, basada en el conocimiento de los requerimientos nutricionales, el crecimiento y la reproducción de la especie de interés.

En el caso de *X. helleri*, estas tres condiciones se encuentran asociadas al sexo y la administración de esteroides es una estrategia apropiada para orientar las características que se desean del cultivo, pero se requiere realizar investigación aplicada para generar información confiable sobre el uso de esteroides, que en el futuro permita incrementar o agregar valor y calidad al capital biológico en cultivo.

Según Pandian y Sheela (1995), el uso de esteroides con el propósito de producir poblaciones monosexuales requiere de considerar los siguientes factores: a) la especie de interés, b) el tipo de esteroide y la dosis, c) la duración del tratamiento y d) la edad del organismo. En el presente documento, estos factores se utilizaron como términos de referencia para realizar el diseño de la investigación. Con el propósito de generar un conocimiento comprometido con el proceso productivo y con la comprensión del proceso de la sexualidad de *X. helleri*, el cual servirá para implementar tecnologías apropiadas de manejo para la producción de poblaciones monosexuales de machos.

## RESUMEN

El propósito de este trabajo, fue proponer una estrategia para agregar valor al cultivo comercial del pez espada, *Xiphophorus helleri*, a través de la producción de poblaciones monosexo. El trabajo se desarrolló en tres etapas, cubriendo los siguientes objetivos: 1) caracterizar la proporción de sexos de una cosecha por estación climática, 2) seleccionar el esteroide — $17\alpha$ -Metiltestosterona, Acetato de Trembolona, Norgestrel o 19-Norandrostendiona— y su dosis —30 ó 50 mg/kg de alimento— más eficiente, estimada por la proporción de sexos, la sobrevivencia, el crecimiento y el beneficio económico y 3) seleccionar la mejor edad de aplicación — 5, 18 ó 24 días. La primera fase del estudio se llevó a cabo en la Unidad de Producción Acuícola en Atlacomulco, Morelos, mientras que las otras dos se realizaron en la Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco. La composición de la cosecha se estimó tomando en cuenta el sexo de los peces sobrevivientes y la calidad de agua. Para la selección del esteroide más eficiente se utilizaron peces de 5 días de edad, considerado un diseño experimental de 4 esteroides x 2 dosis más un testigo. Cada tratamiento incluyó 45 peces y tuvo una duración de 135 días, registrando cada quince días la longitud patrón, la altura y el peso de los individuos. Al final del experimento se clasificó el sexo de los peces y se estimó el beneficio económico. Para la determinación de la mejor edad de aplicación se empleó el esteroide más eficiente bajo las mismas condiciones experimentales, pero en este caso se trataron peces con edades de 5, 18 y 24 días. La eficiencia del tratamiento se estimó igual que en la etapa anterior. Los resultados en la unidad de producción indicaron que *X. helleri* presentó una proporción de machos pequeña, ya que fluctuó entre 8.2 y 37.3 %, mostrando una sobrevivencia anual del 74.1% y una amplio margen de tolerancia a la calidad del agua. Por otro lado, el trabajo experimental mostró evidencias que demuestran que la aplicación de esteroides fue exitosa: la sobrevivencia de los peces fue del 95% en seis de los ocho tratamientos; la aplicación de los cuatro esteroides registró una eficiencia masculinizante superior al 91%, contra 8.6% del testigo; los mejores tratamientos fueron con Norgestrel y 19-Norandrostendiona, a pesar de registrar peces intersexuales, entre el 8.6 y 20.6%; los peces tratados registraron un mayor peso y talla que el testigo; el análisis económico indicó que los peces tratados con los esteroides aportaron un mayor beneficio que el testigo, destacando los tratados con el Norgestrel, con los que se obtuvo un ingreso entre \$ 222.6 y \$ 233.6 en contraste con el testigo que registró un ingreso de \$ 180.4. La selección del Norgestrel como mejor tratamiento y su aplicación en las tres edades indicadas, dieron lugar a los siguientes resultados. La mayor sobrevivencia se logró con los peces tratados con dosis de 30 mg/kg y la edad más conveniente para masculinizar a *X. helleri* fue entre los 5 y los 18 días. Bajo estas condiciones se obtuvo una eficiencia superior al 94% en comparación con los tres testigos, que registraron entre el 8 y el 12% de machos. Los peces tratados a la edad de 24 días presentaron mayor cantidad de peces intersexuales. Se concluye que la mejor estrategia para agregarle valor al cultivo comercial de esta especie, es tratar a los peces a los 5 días de edad con Norgestrel, utilizando una dosis de 30 mg/kg de alimento.

## ABSTRACT

The purpose of this work was generating a strategy to add value to the commercial cultivation of swordtail fish, *Xiphophorus helleri*, through the production of monosex population. This research was realized in three phases, covering the following objectives: (1) characterization of sex proportions in culture conditions in a climatic season; (2) choice of best steroid — $17\alpha$ -Methyltestosterone, Trenbolone Acetate, Norgestrel or 19-Norandrostendione— and dose —30 or 50 mg/kg of food— measured through of sex proportion, survival rate, growth rate and economical profit; (3) choice the best application age —5, 18 or 24 days. The first phase of the study was carried out at aquaculture station in Atlacomulco, Morelos, while the remaining two were finished at the Universidad Autonoma Metropolitana, Xochimilco. The cultivation composition was estimated considering the sex of surviving fishes and water quality. To select the most efficient steroid, five-day old fishes were used, employing an experimental design of 4 steroids x 2 doses plus one control group. Each treatment included 45 specimens and had duration of 135 days, where mean length, height and weight of the individuals were registers every fifteen days. At the end of the experiment, the sex of the fishes was classified and the economical profit estimated. For the determination of the best age of application, the most efficient steroid was used under the same experimental conditions, but fishes aged 5, 18 and 24 days old were treated each time. The efficiency of the treatment was estimated as in the previous step. Results from the production site indicate that *X. helleri* has a small male production, which ranges from 8.2 to 37.3%, with an annual survival rate of 74.1% and a wide tolerance margin to water quality conditions. On the other hand, experimental evidences of this work, suggests that the application of steroids was successful; survival rate was of 95% in six of the eight treatments; application of all four steroids registered a masculinization efficiency above 91%, against 8.6% of the control group; the best treatments were Norgestrel and 19-Norandrostendione, despite registering intersexual characteristics ranging from 8.6 to 20.6% of the fishes; specimens treated with these steroids yielded a greater economical profit than the control group, remarkably those treated with Norgestrel, showed profits between \$ 222.6 and \$ 233.6 compared to the control group's (\$180.4). The selection of Norgestrel and its application to the three ages specified led to the following results. The greatest survival rate was achieved with fishes treated with the 30-mg/kg doses and the most convenient age to masculinize *X. helleri* was between 5 and 18 days. Under this condition, efficiency greater than 94% was obtained compared to controls, which registered between 8 and 12% of males. Fishes treated at 24 days of age, showed a greater amount of intersexual individuals. It is concluded that the best strategy to add economical value to commercial cultivation of *X. helleri* is to treat them at 5 days of age with Norgestrel, using a dose of 30 mg/kg of food.



## II. ANTECEDENTES

El empleo de esteroides ha revolucionado las prácticas de la acuicultura a escala mundial, siendo a partir de la década de los años setenta cuando se aplica en forma trascendental para manipular los procesos fisiológicos de especies comestibles (Salmónidos, Ciprínidos y Cíclidos) para la inducción o maduración sexual, la inversión sexual y el crecimiento; pero actualmente, se aplica en mayor escala a peces de ornato, que tienen la ventaja de no ser comestibles (Guerrero, 1975).

Los antecedentes exclusivamente de *X. helleri* que tratan sobre la determinación del sexo se remontan a Essenberg (1923), quien analizó dos hembras maduras de tres años de edad, que dejaron de reproducirse para revertirse en machos, describiendo el proceso de la diferenciación sexual desde las estructuras celulares hasta los distintos tejidos que intervienen en el ovario y el testículo, mencionando que esta especie presenta reversión sexual espontánea, dependiente de las condiciones del medio ambiente.

Baldwin *et al.* (1940) administraron andrógenos a hembras jóvenes, induciendo la formación de características sexuales secundarias del macho, como la modificación de la aleta caudal en forma de espada y la aleta anal que indujo el desarrollo del gonopodio (órgano copulador). Al analizar las gónadas del pez, constataron la degeneración de los ovocitos y el desarrollo de estructuras masculinas.

Cohen (1946) experimentó con pregnonelona en hembras genéticas de *X. maculatus*, que es una especie cercana, induciendo las características masculinas y determinando que estos exhibían un patrón de cortejo típico de machos genéticos. El análisis de las estructuras sexuales de las hembras masculinizadas, indicó que tienden a presentar degradación o atrofia de las gónadas ya que en general eran muy pequeñas y con pocos ovocitos.

Tavolga (1949) describe su proceso embrionario desde huevo (Estado 1) hasta el nacimiento (Estado 26), en un periodo entre 22 y 30 días, dependiendo de las condiciones del ambiente. Mencionando que en el estado 18, las gónadas son visibles y no existe evidencia de dimorfismo sexual.

Lodi (1979) reporta la presencia de hembras gonocóricas y una proporción de hermafroditas protoginias, que se constituyeron en machos funcionales, además registró la presencia de hembras arrenoides que adquirieron las características sexuales masculinas, pero que no son capaces de inseminar a otras hembras. También, demostró que existen dos tipos de machos, algunos muy jóvenes (dos meses de edad) que ya presentan los caracteres sexuales secundarios y son de talla pequeña y otro tipo, que desarrollan estos caracteres citados hasta los doce meses, pero previo a esta condición masculina tienen apariencia de hembra. Por esta razón, menciona que muchos de los trabajos realizados con esta especie pudieron confundir este tipo de machos con hembras adultas.

Kramer y Kallman (1985) analizan la determinación del sexo en estadios tempranos del desarrollo embrionario, coincidiendo con Tavolga (1949), ya que a partir del Estado 18, es posible reconocer un dimorfismo sexual basado en rasgos somáticos de la gónada.

Jessy y Varghese (1987) analizaron la eficiencia del esteroide  $17\alpha$ -metiltestosterona, aplicando dosis de 80, 100, 120 y 140 mg/kg de alimento, obteniendo eficiencias hasta del 91.3% de machos con la mayor concentración, observando además, que la hormona acentuaba el color de los peces tratados.

Lim *et al.* (1992) analizaron la eficiencia del mismo esteroide en juveniles de tres semanas de edad, aplicando tratamiento de corta duración de 10 días con dosis de 50, 100, 200, 300, 500 y 750 mg/kg de pez, obteniendo eficiencias hasta del 100% con las dos últimas dosis.

Nava-Bautista y Rodríguez-Gutiérrez (1997), también analizaron la eficiencia del mismo esteroide en juveniles de un día de edad, durante 40 días a dosis de 35 mg/kg de alimento, registrando el 100% de masculinización.

Márquez (1999) utilizó el esteroide  $17\alpha$ -metiltestosterona en el alimento de hembras grávidas, con dosis de 5.0, 7.5, 10.0, y 12.5 mg/kg de alimento, induciendo la masculinización de las crías hasta el 85.7%.

Marañón *et al.* (1999) analizaron la eficiencia de los esteroides norgestrel y 19-norandrostendiona en juveniles de 5 días de edad, durante 60 días con dosis de 30 y 50 mg/kg de alimento, reportando que ambos esteroides inducen la masculinización en un 100%, con una sobrevivencia entre 80 y 84.4% y entre 68.8 y 71.1%, respectivamente.

Con respecto al uso de los esteroides propuestos, la literatura indica que el agente masculinizante más utilizado en la piscicultura comercial es la 17 $\alpha$ -metiltestosterona (17 $\alpha$ -MT), que ha sido aplicado en al menos 25 especies, siendo la familia Poeciliidae una de las más utilizadas para practicar la inversión sexual (Pandian y Sheela, 1995). El acetato de trembolona (ATB) es otro esteroide sintético con actividad hormonal similar a la 17 $\alpha$ -MT, pero con mayor actividad anabólica (Rico y Burgat, 1983), al igual que la 19-norandrostendiona (19-NAD) es muy utilizada en la industria pecuaria como anabólico (Ávila *et al.*, 1990). El norgestrel (NOR) es una progesterona sintética con alta capacidad masculinizante (Marañón *et al.*, 1999).

Considerando que la 17 $\alpha$ -MT ya fue referida en los antecedentes previos, los reportes de los otros tres esteroides son simplificados, así el ATB se ha empleado con éxito en forma comercial en la industria avícola, bovina, porcina y en general en la industria pecuaria y es considerado como una hormona sexual anabólica (Hoffmann y Evers, 1986). En la piscicultura, el ATB ha sido aplicado como un agente masculinizante con una eficiencia mayor del 90% en especies como el bagre de canal, *Ictalurus punctatus*, (Galves *et al.*, 1995, Davies *et al.*, 2000); la tilapia azul, *Oreochromis aureus*, (Galves y Morrison, 1996), la tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus*, (Contreras-Sánchez *et al.*, 1997); mientras que en el guppy, *Poecilia reticulata*, se registró una eficiencia masculinizante del 100% (Azpeitia, 1997; Maya, 2007). La hormona 19-NAD es reportada como un excelente agente masculinizante, con una eficiencia del 100% en *P. reticulata* (Kavumpurath y Pandian, 1993) y en el pez cola de espada (Marañón *et al.*, 1999). Mientras que el NOR es reportado por Marañón *et al.* (1999) con una eficiencia masculinizante del 100% en *Xiphophorus helleri*, mientras que Sánchez (1994) reporta una eficiencia del 75% en la molly yucateca, *Poecilia velifera*.

### III. BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

#### 1. Clasificación taxonómica

Las primeras noticias acerca del pez cola de espada se remontan a 1840, año en el que un naturalista austríaco de apellido Heller hizo llegar al famoso ictiólogo Jacob Heckel un ejemplar capturado en un río de la población de Orizaba (Veracruz, México). Después de numerosas comprobaciones fue registrado en 1848 con su nombre científico actual "*Xiphophorus helleri*" cuya traducción castellana es "Portaespadas de Heller".

El género *Xiphophorus* comprende alrededor de 17 especies y particularmente la especie *X. helleri*, consta de cuatro variedades: *X. helleri helleri*, *X. helleri strigatus*, *X. helleri guentheri* y *X. helleri alvarezii* (Kallman y Atz, 1966).

Taxonomía de *Xiphophorus helleri* (Álvarez del Villar, 1970; Espinosa, *et al.*, 1993)

Reino	Animalia
Subreino	Metazoa
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
División	Gnathostomata
Superclase	Pisces
Clase	Osteichthyes
Subclase	Actinopterygii-Neopterygii
Cohorte	Euteleostei
Orden	Artherinomorpha
Suborden	Cyprinodontoidei
Superfamilia	Cyprinodontidae
Familia	Poeciliidae
Subfamilia	Poeciliinae
Tribu	Poeciliini
Género	<i>Xiphophorus</i>
Especie	<i>helleri</i>

## **2. Distribución geográfica**

El pez cola de espada es originario de México y se localiza en la vertiente del Atlántico, desde el río Nautla, en Veracruz, hasta el Noroeste de Honduras, en Centroamérica, pasando por Guatemala (Milton y Arthington, 1983). La dispersión del pez espada en el mundo es debido al pueblo alemán, ya que los primeros ejemplares que aparecieron en Europa se registraron en 1909 en ese país, en donde se domesticó y dispersó rápidamente (Arijón, 2003), atrayendo la preferencia de los acuaristas para su comercialización a nivel mundial, principalmente por los países de oriente (Lim *et al.*, 1992).

En la actualidad, los peces espada han hecho su aparición en todo tipo de aguas, se encuentran en ríos, arroyos y lagos de aguas cristalinas y corrientes suaves, con lechos combinados de arena y rocas así como abundante vegetación.

## **3. Descripción del pez cola de espada**

Una característica de este organismo es que presenta dimorfismo sexual, de esa forma los machos y las hembras son fácilmente distinguibles; *X. helleri* es conocida con el nombre de pez cola de espada por la proyección en forma de espada que presentan los radios inferiores de la aleta caudal de los machos, alcanzando una talla máxima (hasta la base de la cola) de 14 cm, mientras que la hembra llega hasta 16 cm con un peso entre 2 y 4 gramos. La forma del cuerpo es alargada y estilizada, lateralmente comprimida y el pedúnculo caudal es muy ancho en comparación con otros Poecílidos. La forma silvestre presenta una coloración verde amarillento a los lados del cuerpo, la cola de los machos también tiene una coloración verde metálica o naranja, enmarcada por un filo negro, sobresale una línea roja que corre a lo largo del cuerpo, el dorso de color verde oliva y el abdomen amarillo (Dawes, 1991), como se aprecia en la figura 1.

Mientras que las variedades domesticadas presentan modificaciones en el color del cuerpo y en el tipo y forma de las aletas (Tamaru *et al.*, 2001). Tiene un periodo de vida aproximadamente de 3 años (Velasco, 1976).



Figura 1. Pez cola de espada, *X. helleri*, ejemplar silvestre masculino. Tomado de Dawes (1991).

#### 4. Diferenciación sexual

El proceso de la diferenciación sexual en *X. helleri* se inicia con la maduración sexual que se presenta en la décima semana en promedio (Beo y Kallman, 1982 citado por Ordaz, 1985).

La diferenciación sexual se inicia en los machos por la modificación de la aleta caudal y anal, que dan lugar a la espada y el gonopodio, respectivamente. En el primer caso, se presenta una prolongación de los radios inferiores de la aleta caudal que originan la espada; mientras que en el segundo caso, los radios se pliegan formando un tubo llamado gonopodio, que utilizan para introducir el esperma directamente en el cuerpo de la hembra, como se aprecia en la figura 2. En particular el género *Xiphophorus* exhibe el llamado gonopodio oscilante, que consiste en una rotación y flexión deliberada de esta estructura en conjunción con una de sus aletas pélvicas, acompañado por un movimiento en forma de “s” del cuerpo (Velasco, 1976).

En las hembras el cuerpo es más grueso y redondeado, conservando la aleta anal con los radios bien extendidos y muestran una mancha oscura en su región abdominal, por delante de la aleta anal que se conoce como punto grávido, que se oscurece y se agranda a medida que las hembras estén grávidas y avance la gestación.

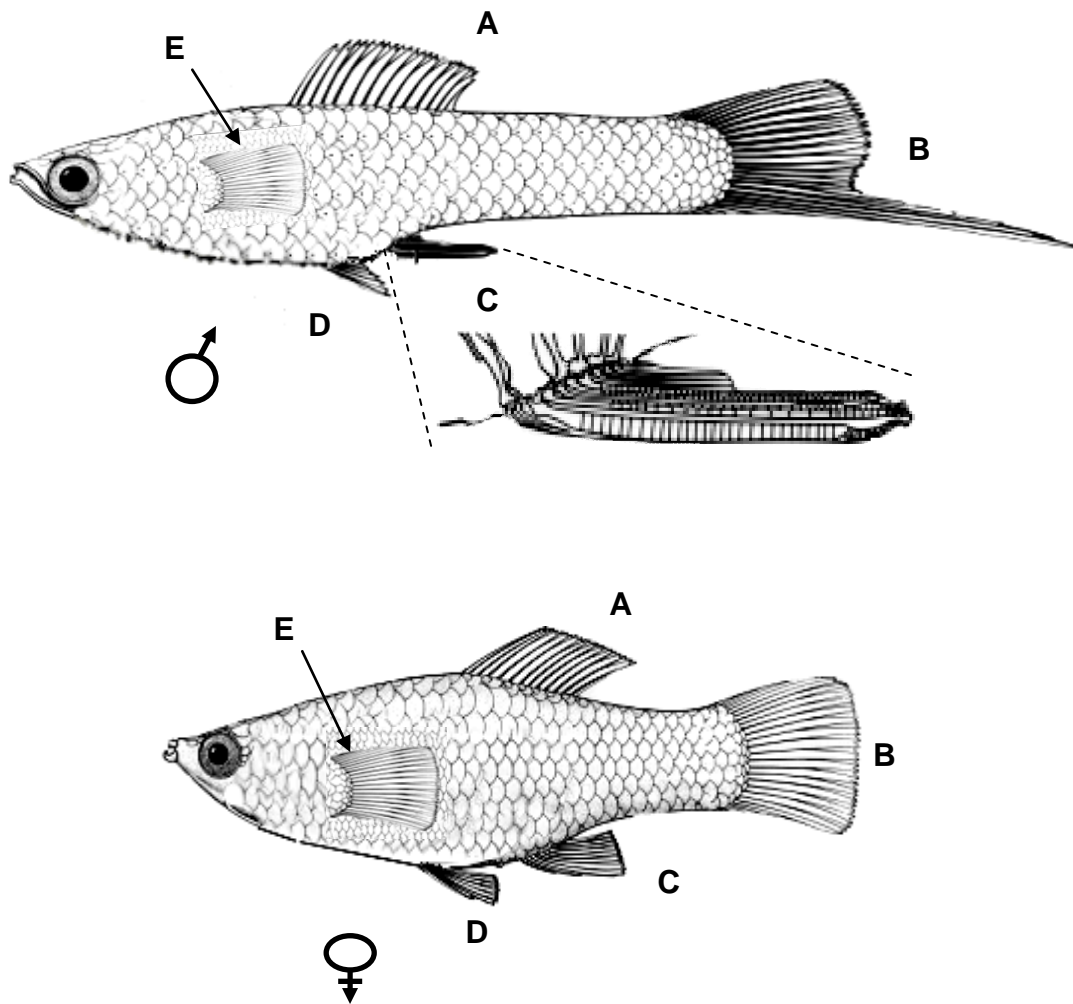


Figura 2. Diferenciación sexual de *X. helleri*. La imagen superior muestra un macho y la inferior a una hembra. El código de letras indica el tipo de aleta del pez: (A) aleta dorsal; (B) aleta caudal, modificado en el macho en forma de espada; (C) aleta anal, modificado en el macho como gonopodio; (D) aleta pélvica y (E) aleta pectoral

## **5. Reproducción**

*X. helleri* tiene una reproducción ovovivípara, ya que los huevos se fertilizan y se incuban dentro del cuerpo de la hembra. Cada embrión se nutre de su propio huevo, permanecen en este lugar hasta el alumbramiento y cuando nacen ya son capaces de nadar de forma independiente (Arijón, 2003). A partir de la fecundación, el período de gestación tiene una duración aproximada de 26 a 63 días (Milton y Arthington, 1983).

El pez cola de espada llega a la madurez sexual entre la 10ª y 12ª semanas de edad, cuando tienen una talla aproximada de 25 a 30 mm, a esta edad son completamente polígamos, mostrando una conducta de apareamiento dominante por parte del macho, quien acosa a la hembra hasta que logra introducir el gonopodio y depositar en el oviducto de la hembra un paquete o espermatóforo que puede llegar a contener hasta 5,000 espermatozoides (Marty y Couto, 1976).

Las hembras tienen la habilidad de almacenar esperma después de aparearse con un macho, pudiendo generar varias generaciones sin necesidad de tener un nuevo contacto con el macho, esta cualidad ocasiona que el número de crías varíe, las más jóvenes pueden tener de 20 a 40 alevines, mientras que las maduras llegan a tener cantidades superiores a los 175 alevines. La fecundidad de las hembras no sólo está determinada por la edad, sino también por la talla corporal (Marty y Couto, 1976). Un factor que influye en la reproducción es la temperatura, debido a que valores menores a los 19°C, disminuyen la tasa de reproducción y sobrevivencia de los alevines.

## **6. Papel de las células germinales**

Las células madre tienen la capacidad de autorrenovarse, es decir, producir nuevas células madre y células hijas asignadas a determinadas rutas de desarrollo de tejidos, que finalmente serán células más especializadas, las cuales migran hacia las gónadas donde sufren una diferenciación especial que dependerá de su ubicación final, en células masculinas o femeninas.



Las gónadas no sólo son importantes en la reproducción, sino que también son precursoras de las hormonas sexuales, las cuales actúan sobre los ciclos neurohormonales a través del sistema nervioso central (Sporri y Stunzi, 1977; Van Aerle *et al.*, 2004).

La reacción del sistema nervioso a la administración de esteroides sexuales depende en gran medida de la dosis administrada, pequeñas cantidades de estrógenos provocan un breve aumento en la producción de gonadotropinas y progesterona, incluso puede ocasionar la ovulación en el caso de los mamíferos. Mientras que, dosis elevadas de estrógenos o progesterona favorecen la actividad gonadotrópica (Sporri y Stunzi, 1977).

La gonadotropina típicamente actúa a través de la biosíntesis de las hormonas esteroideas y sus efectos se manifiestan particularmente en peces teleósteos, que proporcionan excelentes modelos para investigar el mecanismo básico de regulación hormonal gonadal en la diferenciación sexual de la gametogénesis, que abarca la espermatogénesis, maduración espermática, crecimiento y maduración de los ovocitos (Nagahama, 1999).

En la mayoría de las especies acuáticas, la maduración sexual se acompaña de una reducción en los índices de crecimiento, un incremento de la mortalidad y el deterioro de las características organolépticas de la carne, como en las hembras de la carpa común, *Cyprinus carpio*, que invierten entre el 25 y 35% del peso corporal en el desarrollo gonadal, siendo de escaso valor comercial en sistemas de engorda (Manzoor y Satyanarayana, 1989). El desarrollo de las gónadas se acompaña de una drástica alteración endocrina, que supone cambios en la composición corporal y en el comportamiento de los animales. El incremento de los niveles de testosterona en machos, por ejemplo, se traduce en una mayor agresividad y en la acentuación de la territorialidad, lo que implica dificultades en su manejo y un aumento de la mortalidad (Sporri y Stunzi, 1977; Venkatesh *et al.*, 2001). El estudio de las células germinales en la diferenciación sexual de los peces es básico para orientar el uso de la energía que el organismo utiliza para realizar sus actividades fisiológicas.

## **7. Determinación genética del sexo y diferenciación sexual**

La determinación sexual de un pez involucra una serie de procesos bioquímicos que varía entre individuos y poblaciones, que aunado a los cambios de los factores ambientales y a la

gran variabilidad genética que presentan estos organismos, hacen que se presente una gama de posibilidades muy extensa, por lo que se podría asegurar que actualmente el nivel del conocimiento sobre los mecanismos que conducen a la determinación y diferenciación sexual de los peces es muy pobre (Devlin, 2002; Nagahama, 1999).

En los peces, el mecanismo de la determinación sexual en las células madre no está muy definido. En algunas especies la gónada indiferenciada toma forma de ovario en las hembras y de testículo en los machos, mientras que en otras especies la estructura se forma en su totalidad en el embrión, que posteriormente se desarrolla como ovario en hembras o después de muerto el ovocito, en el testículo en los machos, (Slanchev *et al.*, 2005).

La determinación genética del sexo en los peces se ha practicado tanto en el platy, *Xiphophorus maculatus*, como en el pez cola de espada (Campton, 1989, citado por Tamaru *et al.* 2001). De tal forma que la mayoría de las variedades de *X. helleri* provienen de híbridos entre estas dos especies. Por esta razón, se considera que la determinación sexual del pez espada es más compleja, debido a la interacción poligénica. La determinación genética del sexo se encuentra en varios cromosomas que interactúan unos con otros y la acumulación de estos genes determina el sexo del pez. De acuerdo con Tamaru *et al.* (2001), el sexo del platy es determinado por los genes W, X y Y, los cuales resultan en tres genotipos femeninos WX, WY y XX y dos genotipos masculinos YY, XY.

## **8. Determinación del sexo controlada por factores ambientales**

En la práctica acuícola de ornato, es de capital importancia cuidar que haya una sincronización en la maduración de los reproductores con las variaciones de los distintos factores ambientales, (Carrillo y Zanuy, 1993), debido a que en los peces se presentan cambios cíclicos en sus niveles hormonales, además de habitar en un medio que experimenta constantes variaciones en el ambiente externo como la luz, la temperatura, el oxígeno disuelto, la salinidad, el pH y la disponibilidad de nutrientes; además de los estímulos sociales como la presencia de otros individuos, la densidad de la población y la proporción de sexos (Conover y Heins, 1987).

De esta forma, cada individuo dispone de un sistema que recibe la información procedente tanto de un ambiente exterior así como uno interior del organismo, que al integrarse determina en respuesta el establecimiento de un estado endocrino que regula todos los eventos fisiológicos que conducirán a la reproducción y finalmente a la determinación sexual de la progenie. Estas complejas funciones se llevan a cabo a través de múltiples interacciones que inciden directamente sobre el sistema nervioso central y se llevan a cabo en particular a lo largo del eje hipotálamo--hipófisis-gónada de los peces (Bye, 1984; Bromage *et al.*, 1990).

La diferenciación del sexo en los peces sincronizada por los distintos factores ambientales, es un aspecto determinante en los sistemas de producción de peces, tanto de consumo como de ornato. Debido a que su conocimiento y manejo se traduce en mantener una producción controlada de huevos y alevines que desarrollen características monosexuales, que se reflejan en los morfotipos que se cosechan.

En la acuicultura el objetivo principal es la producción de especies que responden a un interés socio-económico, finalidad que se cumple de acuerdo al sexo de los peces que presenten dimorfismo sexual, como es el caso de los Poecílidos, donde el macho es quien presenta las características más vistosas.

Aún cuando el sexo en los peces está determinado genéticamente, la estimulación del sistema endocrino del organismo permite influir en el proceso de diferenciación sexual y puede ser modificado por los factores ambientales, como en el caso de la temperatura o mediante la aplicación de hormonas esteroides, que dependiendo el tipo, dosis y tiempo de aplicación, actúan como agente masculinizante o feminizante, según sea el caso.

#### IV. EL PAPEL DE LOS ESTEROIDES

Los esteroides constituyen una numerosa e importante clase de compuestos químicos orgánicos que desempeñan un papel primordial en destacadas funciones biológicas en todos los seres vivos (Lamb, *et al.*, 2001). Su estructura química es similar y tiene como base al esqueleto de ciclopentanoperhidrofenantreno, como se aprecia en la figura 3, pequeños cambios en dicha estructura ocasionan efectos dramáticos, lo cual indica que estas moléculas interactúan con lugares específicos (sitios receptores) dentro de la célula. Estos compuestos tienen como precursor la molécula del colesterol y este es responsable de la síntesis de varias hormonas esteroidales, como es el caso de las sexuales (Muñoz-Cueto *et al.*, 1997; Devlin y Nagahama, 2002).

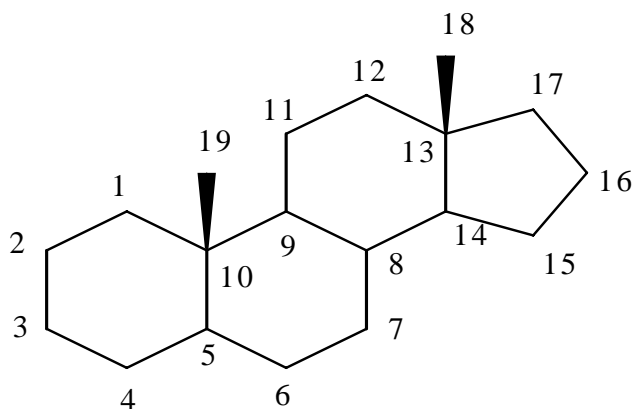


Figura 3. Esqueleto ciclopentanoperhidrofenantreno

El colesterol se forma en varios tejidos como el nervioso, la médula ósea, el cerebro, el intestino, la piel, las arterias y sobretodo en el hígado, que es el lugar donde se lleva a cabo el metabolismo de los andrógenos. A pesar de que este compuesto se encuentra algo “desprestigiado”, tal vez porque los efectos negativos asociados a estas moléculas han sido mal divulgados, este compuesto y sus metabolitos son necesarios para el desarrollo de casi todas las formas de vida.

La diferencia en la estructura química entre una hormona femenina y una masculina, es la ausencia del grupo metilo en la posición 19 del andrógeno, el cual al perderse por una serie

de reacciones enzimáticas que incorporan los grupos hidroxilo en sitios específicos conduce a la aromatización del anillo “A” del esteroide, que es el arreglo característico de las hormonas femeninas (Devlin y Nagahama, 2002). Incluso, las vías bioquímicas que incluyen las principales enzimas y los sitios intracelulares son semejantes en ambos sexos.

## **1. Esteroides sexuales**

### *1.1. Andrógenos*

Son hormonas sexuales masculinas que principalmente se producen en el testículo, donde se sintetiza la hormona más importante, la testosterona. En la corteza adrenal se sintetizan en menor proporción andrógenos y una producción excesiva de estos agentes químicos puede ocasionar una masculinización prematura en organismos jóvenes, mientras que en los machos maduros la secreción de la corteza adrenal se ve considerablemente reducida (Muñoz-Cueto *et al.*, 1997).

Las hembras también segregan pequeñas cantidades de andrógenos, como la androstenediona y en menor proporción la testosterona, que se producen en el ovario y la corteza adrenal, lo cual no es de extrañar considerando que los andrógenos son intermediarios en la biosíntesis de los estrógenos, pero una hipersecreción puede dar lugar a características masculinas en hembras adultas.

Los andrógenos son reconocidos biológicamente por sus efectos sobre características sexuales primarias y secundarias en los peces. En el primer caso, controla el desarrollo del tejido asociado a los órganos sexuales masculinos y la producción de esperma, así como los efectos metabólicos durante el desarrollo de los mismos. En el segundo caso, regula el crecimiento y el color del cuerpo, además de la forma y el tamaño de las aletas, entre otras.

Una vez que la testosterona se ha secretado al torrente circulatorio, a través del cual alcanza los órganos “blanco”, la molécula está expuesta a cambios en su estructura mediados por la acción de varios sistemas enzimáticos, que influirán en forma notable en la expresión de su actividad biológica (Hicks, 2000).

## 1.2. Estrógenos

Son hormonas sexuales femeninas que principalmente se producen en la corteza adrenal y sobretodo en el ovario, donde se sintetiza el estradiol que posteriormente da origen a la estrona, que es la hormona más importante y es producida por un grupo de enzimas conocidas como complejo o sistema de aromatasas. Pequeñas cantidades de estrógenos también se sintetizan en los testículos y la corteza adrenal de los machos.

Los estrógenos fueron las primeras hormonas esteroides aisladas de los fluidos biológicos de los organismos (Stryer, 1990), en una época en la que aún no se conocía la estructura del núcleo esteroide.

## 2. Anabólicos

Los esteroides anabolizantes son sustancias que están relacionadas en su estructura con la hormona sexual masculina testosterona y tienen un efecto en la construcción de tejidos, estos esteroides son agentes químicos que son sintetizados para que tengan un efecto menos virilizante que la testosterona, pero tienen como premisa conservar su efecto anabólico.

De hecho, el efecto androgénico difiere del efecto anabólico de un andrógeno solo en el sitio de acción, ya que el término “androgenicidad” significa una acción anabólica en el órgano sexual mientras que el efecto anabólico implica un desplazamiento en el balance de nitrógeno que permite una mayor producción de proteínas.

Los andrógenos, mejor conocidos como esteroides anabólicos, se encargan de realizar el conjunto de reacciones bioquímicas que constituyen los fenómenos asimiladores del organismo. Se utilizan como un promotor del crecimiento de la masa muscular y el fortalecimiento de las estructuras óseas, debido a que tienen la propiedad de promover la retención del nitrógeno procedente del alimento con la consecuente aceleración de la tasa de absorción de aminoácidos a través del intestino. Además, favorece la eritropoyesis (formación de glóbulos rojos) e incrementa la retención de calcio, fósforo, potasio y azufre que son necesarios para el desarrollo del cartílago en los huesos, ya que estos factores

contribuyen al aumento del peso y de la talla (Cardona, 1986; Wilson y Brigstocke, 1987; Weatherley y Gill, 1987; Nagahama, 1999; Mommsen y Moon, 2001).

### **3. Mecanismos de acción de las hormonas**

Las hormonas son transportadas a todas partes del organismo por el torrente sanguíneo a través de proteínas transportadoras en el plasma y penetran a las células por difusión pasiva, pero su accionar implica la intervención de receptores específicos en los órganos “blanco” como mediadores del evento, ya que la hormona al unirse a un receptor cambia su conformación, es decir su estructura bioquímica. Al realizarse el acoplamiento se puede inhibir el proceso o la ruta metabólica, teniendo como resultado un incremento en la afinidad por los componentes nucleares.

Según Walters (1985) la secuencia de la acción hormonal es: 1) las hormonas esteroidales de naturaleza lipofílica, solubles en lípidos - no polares -, únicamente se ligan a proteínas receptoras específicas en el citoplasma de las células; 2) Los receptores al unirse con la hormona se transforman y desplazan al núcleo, en un estado de equilibrio reversible con los componentes nucleares o con la cromatina; 3) El acoplamiento entre el receptor y el esteroide resulta en la conversión de una estructura transitoria hasta convertirse en un receptor ocupado en un sitio específico en el cromosoma; 4) La concentración de receptores contiene límites variables de esteroides, sugiriendo que son procesos reversibles, posteriormente la hormona se disocia lentamente de su sitio de ligadura; 5) La afinidad de los receptores transformados por el sitio aceptor nuclear es alta, favoreciendo la unión de los receptores a los sitios aceptores y por consiguiente esta interacción con los genes induce en forma secuencial la transcripción de un ARNm específico, la síntesis proteica y la regulación de las funciones celulares.

En general, cuando el complejo receptor - hormona se acopla a una cadena de ADN o cuando dos complejos se unen a una secuencia específica (promotor), la cual se denomina dimerización, se inicia la transcripción de un gen específico que traducirá el ARNm a una cadena de aminoácidos particulares dando respuesta al estímulo del ambiente, ya sea externo o interno.

La plasticidad del desarrollo sexual de los peces utilizando como inductores exógenos a los esteroides permite inducir el desarrollo de las gónadas hacia un sexo particular, sobretodo cuando las células germinales de las gónadas se encuentran indiferenciadas (Yamamoto, 1969; Takahashi, 1974; Fitzpatrick *et al.*, 1993; Pandian y Sheela, 1995).

Si el nivel de administración del esteroide y en particular el estado de desarrollo del pez es el adecuado este ocasiona una alteración en la determinación sexual del individuo, ya que la mayor parte de los tratamientos basados en los andrógenos es efectiva para inducir la masculinización en los peces (Hunter y Donaldson, 1983).

La aplicación de esteroides sintéticos influye directamente el curso del desarrollo gonadal en los peces, donde las hormonas sexuales pueden ser reconocidas fácilmente (Fitzpatrick *et al.*, 1993; Chang *et al.*, 1999), ya que actúan bajo un mecanismo de acción especial en la diferenciación sexual.

Un aspecto relevante para asegurar la eficiencia de estos inductores exógenos es el considerar la edad de los peces para orientar la obtención de un sexo, para ello es determinante conocer el intervalo de tiempo en el que se pueden inducir cambios en la gónada indiferenciada, es decir el período lábil (Hunter y Donaldson, 1983; Pandian y Sheela, 1995). Al respecto, Green *et al.* (1997) establecen una diferencia básica con respecto a la edad en que se induce el sexo de los peces, ya que considera que la inversión del sexo es el proceso en el cual las gónadas indiferenciadas de un pez juvenil son inducidas a un sexo en particular; mientras que la reversión sexual es la inducción de gónadas diferenciadas de un pez adulto, hacia el sexo opuesto.

#### **4. Andrógenos propuestos**

##### *4.1 17 $\alpha$ -Metiltestosterona*

La molécula de la 17  $\alpha$ -Metiltestosterona (17  $\alpha$ -MT) tiene un grupo alquilo en la posición 17, como se aprecia en la figura 4, siendo el único agente activo que es ingerido por vía oral y por consecuencia resiste el metabolismo hepático (Orizaga, 1987).



Para la  $17\alpha$ -MT es difícil determinar cuando se origina el efecto androgénico y anabólico, ya que sus efectos no son evidentes por lo menos en tres meses. La vida media plasmática de la  $17\alpha$ -MT varía desde 10 hasta 100 minutos.

Muy poco de la  $17\alpha$ -MT aparece sin cambios en la orina o las heces de los animales tratados. Casi el 90% de la  $17\alpha$ -MT metabolizada es desechada en la orina en forma de conjugados sulfato (Mc Van, 1995).

En el humano se emplea en casos de impotencia. En la mujer impiden el dolor mamario posparto y el congestiónamiento del pecho, también pueden aminorar la respuesta androgénica en cáncer mamario avanzado, inoperable en pacientes menopáusicas por un intervalo entre uno y cinco años. En mujeres fértiles puede ocasionar masculinización del producto femenino a masculino (Orizaga, 1987).

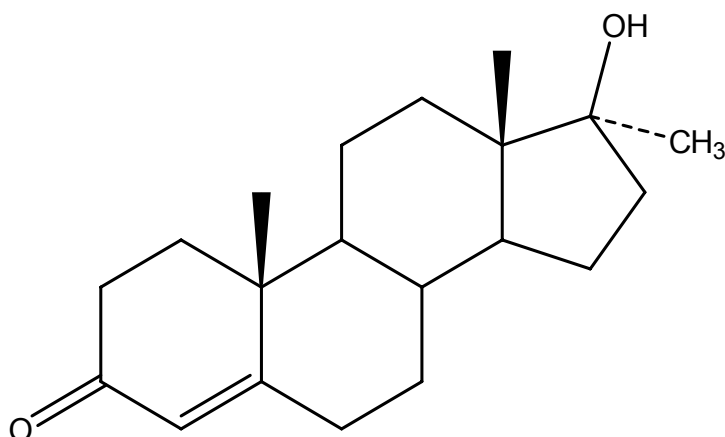


Figura 4. Estructura molecular de  $17\alpha$ -Metilttestosterona.

#### 4.2 Acetato de Trembolona

A partir de 1983, la síntesis de esteroides de bajo precio, como el acetato de trembolona (ATB), produjo un renovado interés por los agentes masculinizantes con actividad anabólica en la industria pecuaria (Rico y Burgat, 1983; Hoffmann y Evers, 1986).

El ATB es un esteroide sintético con actividad hormonal similar a la 17 $\alpha$ -MT pero con una mayor actividad anabólica, debido a que actúa directamente sobre el músculo (Bartle *et al.*, 1992; Hayden *et al.*, 1992; Henricks *et al.*, 1997; Guiroy *et al.*, 2002), ya que su molécula presenta características estructurales similares, pero difiere al presentar tres enlaces dobles conjugados (Rico y Burgat, 1983), como se observa en la figura 5. El ATB está aprobado por la oficina de la administración de drogas y alimentos (FDA) de los Estados Unidos para mantener el crecimiento del ganado bovino y se utiliza en forma comercial (Roche y Quirke, 1986).

El ATB es fácilmente desacetilado en la sangre para producir un componente activo, que es la trembolona la cual enlaza a los receptores de los andrógenos y estrógenos en el músculo esquelético. Estos enlaces inician eventos que alteran la degradación y síntesis de proteínas, dando como resultado un incremento neto de proteínas en el músculo que se refleja en la condición del organismo (Anderson, 1991).

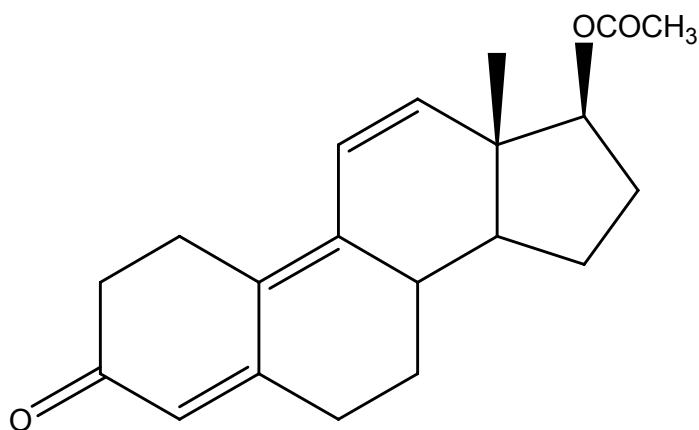


Figura 5. Estructura molecular del Acetato de Trembolona.

#### 4.3 19-Norandrostendiona

El esteroide 19-Norandrostendiona (19-NAD) es un andrógeno relativamente débil, se puede convertir en la testosterona o en un estrógeno (estrone) dentro de la sangre. Además, aumenta los niveles de la testosterona en sangre y de esta manera aumenta la masa del

músculo. Un aumento de 19-NAD puede inhibir la producción de la testosterona provocando infertilidad (Orizaga, 1987; Hicks, 2000).

La 19-NAD es químicamente conocida como 4 o 5 - androstene - 3  $\beta$ , 17  $\beta$  - dione, es una hormona natural y es el precursor inmediato de la testosterona, su molécula se presenta en la figura 6.

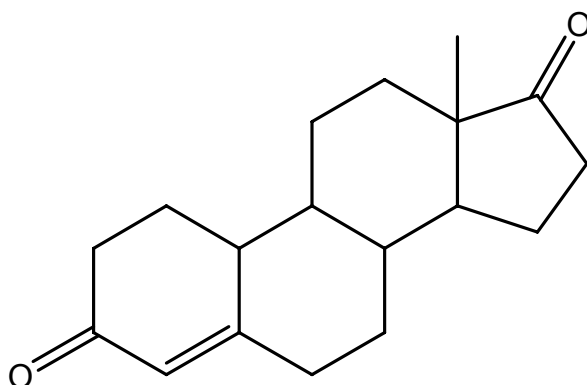


Figura 6. Estructura molecular del 19-Norandrostendiona.

#### 4.4 Norgestrel

Sin duda el uso más conocido de los esteroides con características progestacionales es su empleo como agentes anticonceptivos. El primer compuesto, administrado en forma oral para tal efecto fue la 19-Noretindrona, hasta llegar a compuestos más eficientes como el norgestrel (NOR).

El NOR es una progesterona sintética y es usada como un anticonceptivo oral y algunas veces puede ser combinado con algún estrógeno como la noretindrona, pero a veces esto no es muy usado por causar efectos de irregularidad (Roisenstein, 1997).

El principal efecto anticonceptivo de la progesterona es a nivel celular, en el cual su mecanismo de acción es evitar la ovulación en un 70 – 80% de los ciclos. Otra acción de la

progesterona es que causa alteraciones en el endometrio, lo que puede dañar la implantación y la migración del espermatozoide dentro del útero.

El NOR es administrado oralmente y es fácilmente absorbido desde el tracto digestivo, además de ser distribuido en fluidos del cuerpo. La eliminación en su mayor parte es por vía urinaria y en cantidades mínimas a través de la leche y la bilis (Rosenstein, 1997). Su consistencia es de un polvo cristalino blanco, muy ligeramente soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol y acetona y soluble en cloroformo, su molécula se presenta en la figura 7.

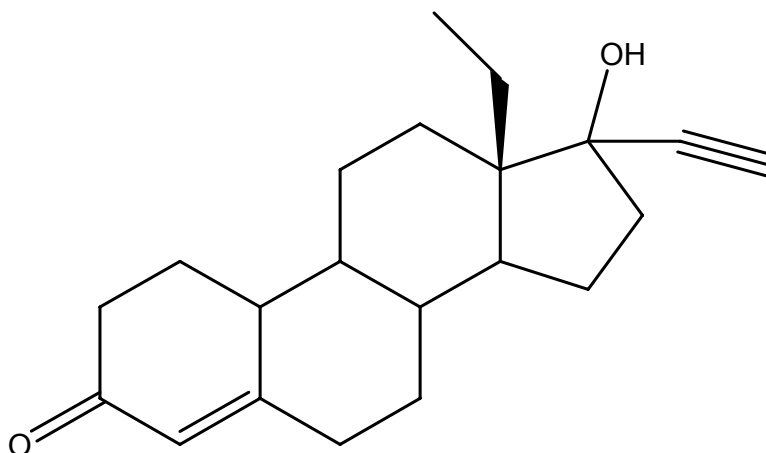


Figura 7. Estructura molecular del Norgestrel.

## V. DESCRIPCIÓN DE LA GRANJA DE REFERENCIA

La unidad de producción de peces de ornato “Avalón” se encuentra ubicada en la colonia Atlacomulco, perteneciente al municipio de Jiutepec en el estado de Morelos (figura 8), en las coordenadas geográficas: 18° 54' de latitud norte y 99° 13' de longitud oeste y representa el 0.1% de la superficie del estado de Morelos (INEGI, 1998). Se encuentra a una altura de 1480 m.n.s.m. y cuenta con un suelo de substrato calizo, así mismo el suministro de agua proviene del manantial de Chapultepec, que nace en la ciudad de Cuernavaca.

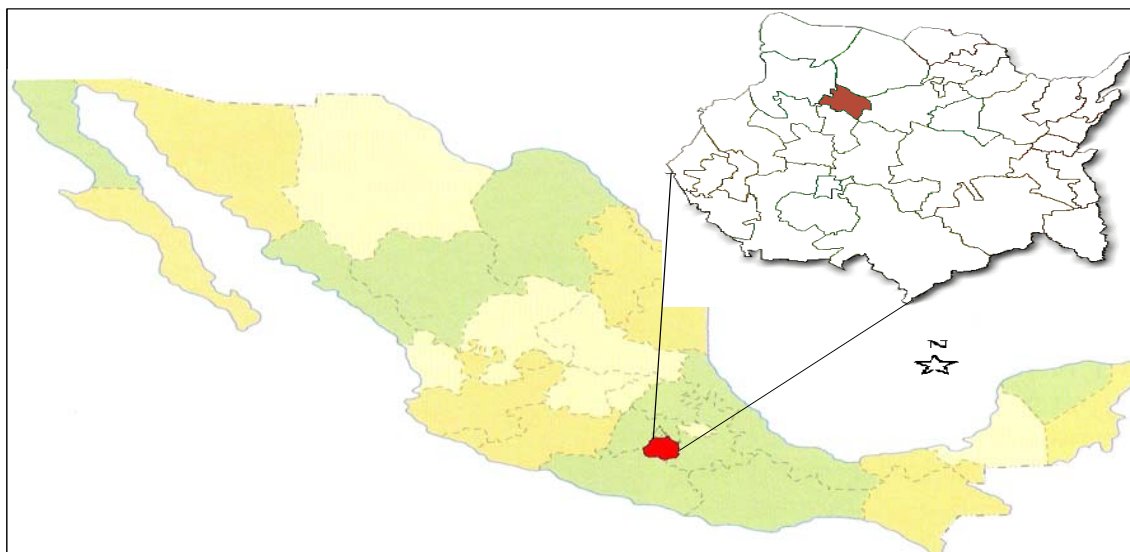


Figura 8. Localización geográfica del municipio de Jiutepec, Morelos.

El clima del municipio es cálido subhúmedo con lluvias en verano de menor humedad (A(wo)) y semicálido subhúmedo con lluvias en verano de humedad media (A CwI) (INEGI, 1998); su precipitación anual es de 800 a 1000 mm, registrándose 60 mm en el mes más seco; el porcentaje de lluvia invernal es menor al 5%. La temperatura media anual es de 22 a 24°C, con oscilaciones máximas de 5 a 7°C entre diciembre y abril (García, 1986).

La granja acuícola tiene una extensión de 300 m<sup>2</sup> de espejo de agua, de los cuales 230 m<sup>2</sup> son destinados para el crecimiento y 70 m<sup>2</sup> para la reproducción. El número total de estanques es de 18, de los cuales 7 son rústicos y 11 de concreto. Se cultivan las siguientes especies: carpa dorada, *Carassius auratus*; guppy, *Poecilia reticulata*; pez espada, *Xiphophorus helleri*; molly duque, *Xiphophorus maculatus*; y platy, *Poecilia sphenops*.

## VI. OBJETIVO GENERAL

Mejorar la calidad del cultivo comercial de *X. helleri* a través de la producción de poblaciones monosexo como una estrategia para agregar valor a la actividad acuícola.

### 1. Objetivos particulares

1. Caracterizar la proporción de sexos de una cosecha comercial en una granja de peces de ornato del estado de Morelos, durante un ciclo anual por estación climática.
2. Seleccionar el esteroide: — $17\alpha$ -Metiltestosterona, Acetato de Trembolona, Norgestrel o 19-Norandrostendiona — y su dosis —30 ó 50 mg/kg de alimento— más eficiente, estimado por la proporción de sexos, la sobrevivencia y el crecimiento.
3. Seleccionar la mejor edad de aplicación —5, 18 ó 24 días—, con base en los criterios citados de eficiencia.

## VII. MÉTODOS

El trabajo fue realizado en tres etapas; la primera, se llevo a cabo en la unidad de producción de Atlacomulco, Morelos, el objetivo fue caracterizar la proporción de sexos de la cosecha comercial por estación climática, tomando como referencia las condiciones físico químicas del agua de los estanques. Las otras dos fueron realizadas en el Laboratorio de Sistemas Acuícolas de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco; consistiendo en dos trabajos experimentales; en el primer trabajo el objetivo fue seleccionar el esteroide y su dosis más eficiente, estimado por la proporción de sexos, la sobrevivencia y el crecimiento. En el segundo trabajo experimental, el objetivo fue seleccionar la mejor edad de aplicación, en base a los criterios citados de eficiencia.

### 1. La unidad de producción

Se analizó información generada por estación climática durante un ciclo anual de producción de *X. helleri* en tres estanques, que en conjunto cubrían un volumen estimado de 27.9 m<sup>3</sup> de agua. La densidad de siembra promedio por estanque fue de 1 552 ± 141 peces, calculada a razón de 6 litros por pez, los cuales fueron alimentados con alimento comercial Pedregal®; con 25% de proteína cruda, a una proporción del 5% de su biomasa corporal.

Para contar con un punto de referencia se estimó la calidad del agua, realizándose el seguimiento mensual de los tres estanques citados, registrándose los siguientes parámetros físico químicos: temperatura (termómetro digital, Corning; ± 1°C), pH (potenciómetro digital, Ohaus; ± 0.2) y oxígeno disuelto (oxímetro digital, YSI; ± 0.01 mg/l).

Con el objeto de describir la composición de la cosecha por estación se contabilizaron los peces al inicio de la evaluación (siembra) y conforme fueron madurando se separaron, contaron y se clasificaron por sexo, de acuerdo a la presencia o ausencia del gonopodio (Constantz, 1989), para su posterior comercialización. Al finalizar el periodo de engorda (cosecha), previo al vaciado de los estanques, se censaron los peces sobrevivientes. El procedimiento se repitió por estación.

## 2. Primer trabajo experimental

### *Origen de los juveniles*

Los juveniles de *X. helleri*, variedad roja, como la que se muestra en la figura 9, se obtuvieron en condiciones de laboratorio de tres hembras cuyos juveniles nacieron con diferencia de un día de edad, posteriormente se mantuvieron por un lapso de cinco días, en acuarios de 40 litros. La temperatura del agua se mantuvo en  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , la concentración de oxígeno a  $6.86 \pm 0.05$  mg/l y el pH a  $8.5 \pm 0.5$ . Diariamente se les suministró a los peces alimento comercial en hojuelas a saciedad, Wardley®, con un mínimo de 40% de proteína cruda y 4% de grasa, a una proporción del 5% de su biomasa corporal, fraccionado en dos raciones.



Figura 9. *X. helleri*, variedad roja, sujeto de experimentación en el presente trabajo.

### *Diseño experimental*

El experimento consistió en un diseño factorial completamente aleatorizado con dos factores: esteroide ( $17\alpha$ -metiltestosterona, 19-norandrostendiona, acetato de trembolona y norgestrel) y la concentración o dosis (30 y 50 mg/kg de alimento), más un testigo. Cada tratamiento se



realizó por triplicado con 45 peces, correspondiendo a 15 por acuario, siendo en total nueve tratamientos. El tiempo de administración del esteroide fue de 60 días, pero se evaluó durante 135 días para estimar el efecto residual de los esteroides.

#### *Condiciones experimentales.*

Se registró diariamente en cada uno de los acuarios: la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto. El agua de los acuarios se mantuvo con aireación constante y el volumen perdido por evaporación se repuso con agua previamente aireada y libre de cloro, con el objeto de conservar las mismas condiciones experimentales. Los desechos sólidos (heces y alimento remanente) se retiraron con redes comerciales con luz de malla de 0.3 mm y con la ayuda de un sifón, una vez por semana; cada 30 días se aplicaron tratamientos profilácticos para evitar la proliferación de bacterias, con Cyprix® (etanol anhidro, ácido fénico y 1,3 dihidroxibenzol) en las dosis recomendadas, según instrucciones del producto.

#### *Preparación del alimento*

Los esteroides fueron incorporados al alimento comercial por el método de evaporación de alcohol, descrito por Guerrero (1975). La preparación del alimento del testigo se realizó con el mismo procedimiento, incluyendo el alcohol, pero sin el esteroide.

#### *Evaluación de la proporción sexual*

Se determinó el sexo de los peces al finalizar el experimento, por el reconocimiento externo de la aleta anal modificada en los machos como gonopodio (Constantz, 1989) y la presencia de la espada. La eficiencia de la masculinización se estimó contrastando la proporción de machos por tratamiento con respecto al grupo control.

#### *Evaluaciones morfométricas*

Cada quince días se registraron las siguientes variables: longitud total, longitud patrón, altura y peso. Las mediciones de los organismos se realizaron con un calibrador (Scala;  $\pm 0.001$  cm) y el peso se obtuvo con una balanza digital (Mettler;  $\pm 0.001$  g).

*Análisis estadístico*

Para estimar el efecto de los esteroides sobre los parámetros morfométricos (peso y longitud patrón) de los peces se estimó el análisis de varianza de un factor (tratamiento), de resultar significativo ( $P < 0.05$ ) se procedió a determinar entre que grupos experimentales por la prueba de Tukey (Montgomery, 1984). Al finalizar la evaluación se probaron tres contrastes, bajo las siguientes consideraciones:

Contraste	Hipótesis nula
$\Psi_1: \mu_1 = \mu_2 + \mu_3 + \mu_4 + \mu_5 + \mu_6 + \mu_7 + \mu_8 + \mu_9$	El crecimiento de los peces del testigo es igual al de los peces tratados
$\Psi_2: \mu_2 + \mu_4 + \mu_6 + \mu_8 = \mu_3 + \mu_5 + \mu_7 + \mu_9$	El crecimiento de los peces tratados con 30 mg/kg es igual al de los peces tratados con 50 mg/kg
$\Psi_3: \mu_2 + \mu_3 = \mu_4 + \mu_5 + \mu_6 + \mu_7$	El crecimiento de los peces tratados con norgestrel es igual al de los peces tratados con 19-norandrostendiona y acetato de trembolona

Clave:  $\mu_1$  = testigo;  $\mu_2$  = NOR30;  $\mu_3$  = NOR50;  $\mu_4$  = 19-NAD30;  $\mu_5$  = 19-NAD50;  $\mu_6$  = ATB30;  $\mu_7$  = ATB50;  $\mu_8$  = 17-MT30;  $\mu_9$  = 17-MT50.

El análisis de los peces intersexuales se realizó a través de un análisis de varianza de dos factores (esteroide y dosis), de resultar significativa ( $P < 0.05$ ) se aplicó la prueba de Tukey.

*Estimación del crecimiento*

Con objeto de caracterizar la variabilidad de los datos por quincena, se describió gráficamente el crecimiento por diagramas de caja (Hoaglin *et al.*, 1991). Los parámetros del crecimiento se estimaron de acuerdo con el modelo de von Bertalanffy (Ricker, 1975),

mismos que fueron validados por el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) como una medida de la bondad de ajuste (Draper y Smith, 1981). Para probar la igualdad entre los coeficientes de crecimiento (k) se utilizó la prueba de covarianza, de resultar significativa ( $P < 0.05$ ), se procedió a determinar entre que tratamientos por la prueba de Tukey, de acuerdo con Montgomery (1984).

#### *Evaluación económica*

Se estimó el precio de *X. helleri* por sexo en los mercados “Nuevo San Lázaro” y “Emilio Carranza”, por entrevista a distribuidores mayoristas. El tamaño de muestra fue de 20, tomando como referencia que los peces fueran de la misma variedad y características similares, sobretodo el tamaño. El beneficio económico (*BE*) debido al uso de los esteroides fue calculado a partir de la suma de los productos parciales del costo de los organismos por cada uno de los sexos que sobrevivieron, de la siguiente manera:

$$BE = (\# \text{ de machos} * \text{precio unitario}) + (\# \text{ de hembras} * \text{precio unitario})$$

### **3. Segundo trabajo experimental**

#### *Origen de los juveniles*

Una vez seleccionado el esteroide más eficiente, se procedió a obtener los juveniles de *X. helleri*, en las mismas condiciones ambientales descritas en la fase anterior. Con la diferencia de que los juveniles se mantuvieron por un lapso de 18 y 24 días, que fue la edad seleccionada para comenzar a aplicar los tratamientos.

Las evaluaciones, el análisis y los indicadores que se estimaron para medir la eficiencia del procedimiento fueron los mismos que en el primer trabajo experimental, incluso se estimó el efecto de la edad y la concentración del esteroide sobre los parámetros morfométricos de los peces, a través de un análisis de varianza de un factor y por la prueba de Tukey, para concluir probando tres nuevos contrastes, siendo:

Contraste	Hipótesis nula
$\Psi_1: \mu_1 + \mu_2 + \mu_3 = \mu_4 + \mu_5 + \mu_6 + \mu_7 + \mu_8 + \mu_9$	El crecimiento de los peces del testigo es igual al de los peces tratados
$\Psi_2: \mu_4 + \mu_5 + \mu_6 = \mu_7 + \mu_8 + \mu_9$	El crecimiento de los peces tratados con 30 mg/kg es igual al de los peces tratados con 50 mg/kg
$\Psi_3: \mu_4 + \mu_7 = \mu_5 + \mu_6 + \mu_8 + \mu_9$	El crecimiento de los peces tratados a los 5 días es igual al de los peces tratados a los 18 y 24 días

Clave:  $\mu_1$  = testigo (5);  $\mu_2$  = testigo (18);  $\mu_3$  = testigo (24);  $\mu_4$  = NOR30 (5);  $\mu_5$  = NOR30 (18);  $\mu_6$  = NOR30 (24);  $\mu_7$  = NOR50 (5);  $\mu_8$  = NOR50 (18);  $\mu_9$  = NOR50 (24).

El análisis de los peces intersexuales se realizó a través de un análisis de varianza de dos factores (edad y dosis), de resultar significativa ( $P < 0.05$ ) se aplicó la prueba de Tukey.

## VIII. RESULTADOS

### 1 La unidad de Producción

#### *Calidad del agua*

La tendencia de los parámetros físico químicos del agua que se registraron por estación climática durante el ciclo anual de producción se describe en la figura 10, apreciándose que:

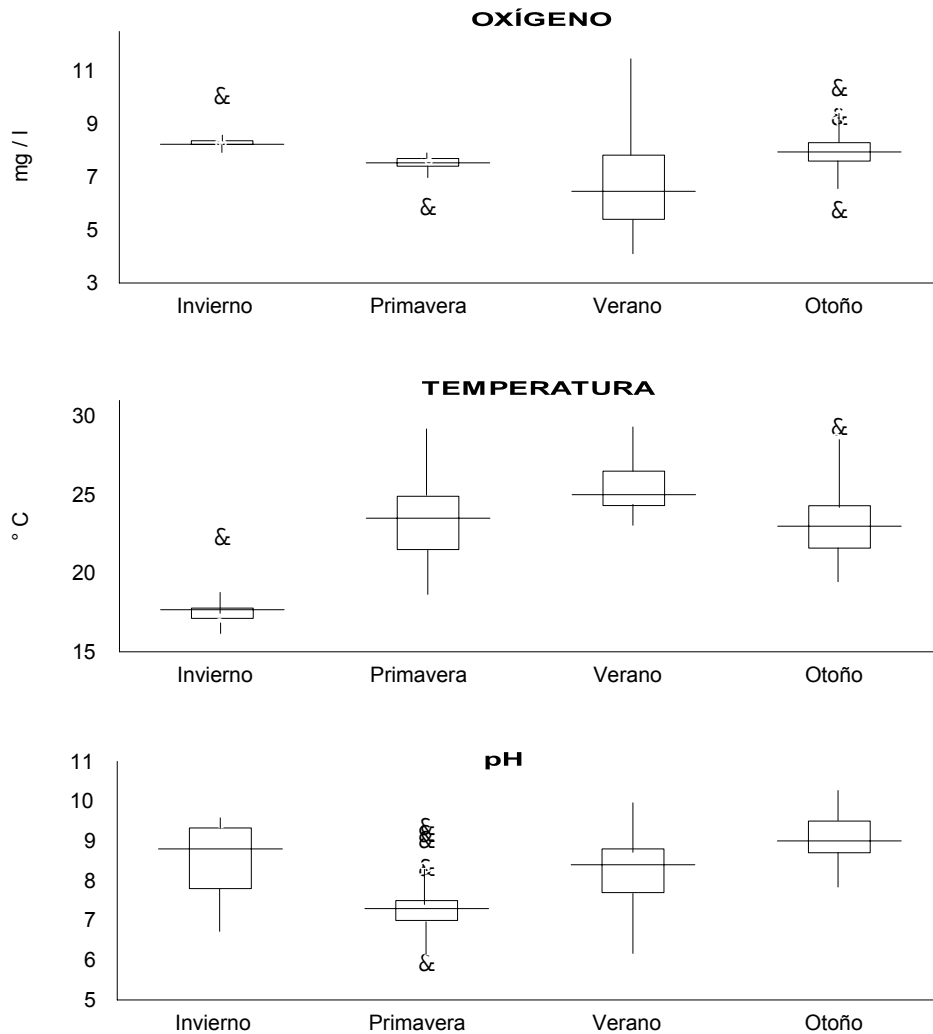


Figura 10. Calidad del agua en la unidad de producción "Avalón". La distribución de los parámetros se realizó por diagramas de caja. La línea horizontal describe la mediana y la caja la distancia intercuartil. Los asteriscos representan los casos extremos.

Los valores de oxígeno disuelto en los estanques se encuentran desde 6.46 mg/l en la estación de verano hasta 8.24 mg/l en el invierno, durante el ciclo evaluado se registró  $7.2 \pm 1.7$  mg/l (promedio  $\pm$  desviación estándar). Los diagramas de caja muestran la tendencia de los registros del oxígeno, indicando que la distribución más homogénea se presentó en el invierno y la primavera; por el contrario, la mayor variabilidad se registró en el verano, cuando el manejo de la unidad de producción se intensifica al llevarse a cabo una mayor actividad comercial, además los procesos metabólicos de los peces cultivados se incrementa y coincide con el inicio de la temporada de lluvias.

La temperatura del agua registrada durante la evaluación fue de  $24.3 \pm 2.4^{\circ}\text{C}$ , mientras que en la estación de invierno se estimó la menor temperatura con  $17.7^{\circ}\text{C}$ , en tanto que en el verano se registró la máxima con  $25.0^{\circ}\text{C}$ . La temperatura del agua se mantuvo por arriba de los  $23^{\circ}\text{C}$  desde la primavera hasta el otoño y disminuyó drásticamente al acercarse el invierno.

El pH promedio que se registro durante la evaluación fue de  $8.1 \pm 0.9$ . El valor mínimo fue registrado durante la primavera con 7.3 y el máximo fue en otoño con 9.0. La mayor variabilidad se registró en la estación de invierno, mientras que las estimaciones registradas en la primavera fueron homogéneas, pero con presencia de casos extremos.

### *Parámetros biológicos*

#### *Sobrevivencia*

Se estimó que sobrevivieron en promedio  $3\,450 \pm 195$  peces por estación, equivalente al 74.1%, correspondiendo 77.5 y 22.5% a hembras y machos, respectivamente. La sobrevivencia por estación fluctuó entre el 69.0 y 78.8%, siendo la estación de invierno donde se estimó la mayor sobrevivencia y por el contrario, en la primavera se registró la menor sobrevivencia. En las estaciones de verano y otoño se registraron sobrevivencias similares, como se aprecia en la figura 11.

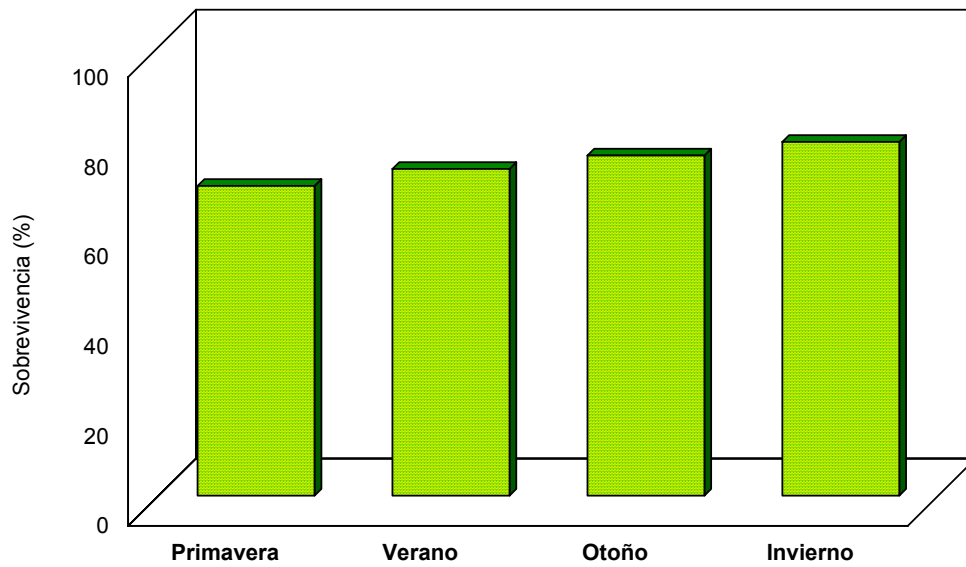


Figura 11. Efecto de la estación climática en la sobrevivencia de *X. helleri* en la unidad de producción "Avalón".

*Proporción de sexos*

Durante el ciclo evaluado las hembras predominaron, como se observa en la figura 12, fluctuando entre el 62.7% en el verano hasta el 91.8% en la primavera, por el contrario, el

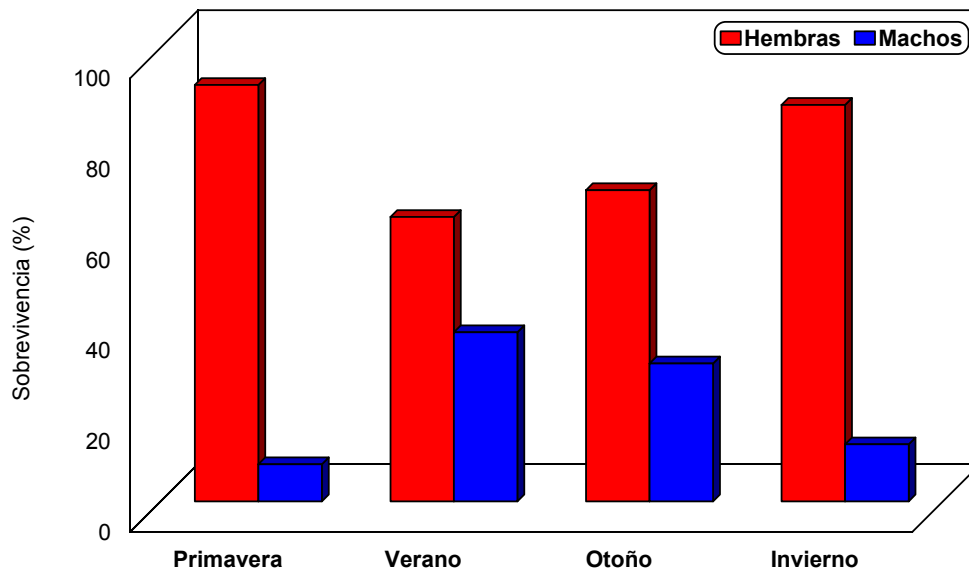


Figura 12. Distribución de sexos de *X. helleri* por estación climática en la sobrevivencia en la unidad de producción "Avalón".

porcentaje de masculinización fluctuó entre 8.2 y 37.3%, registrándose en el verano y otoño la mayor proporción de machos y por el contrario, entre el invierno y la primavera se registró la menor cantidad de machos, como se aprecia en la Figura 11.

En las estaciones de verano al otoño, se estimó que por cada macho hay una probabilidad de encontrar entre 1.7 y 2.2 hembras. En contraste, en la estaciones de invierno a primavera por cada macho hay una probabilidad de encontrar entre 6.9 y 11.2 hembras.



## 2 Primer experimento

Al inicio del primer experimento, los juveniles de 5 días de edad presentaron una longitud patrón de  $0.72 \pm 0.04$  cm y un peso de  $0.013 \pm 0.002$  g. Después de seis días de tratamiento en los peces tratados con Norgestrel se inició la diferenciación sexual, al observarse que la zona inferior de la aleta anal de los peces se opacaba, dando inicio la formación del gonopodio.

Finalizado el periodo de la aplicación de los esteroides, los parámetros morfométricos indicaron que todos los peces tratados tuvieron un mayor crecimiento que los machos del grupo testigo, pero no de las hembras de este grupo que registraron el mayor crecimiento, como se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Parámetros morfométricos de *X. helleri* al finalizar la aplicación de las distintas dosis de esteroides, durante 60 días (promedio  $\pm$  desviación estándar).

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Long. total (cm)	Long. patrón (cm)	Peso (g)	Altura (cm)	Casos (n)
Testigo	0 (♀) *	$3.27 \pm 0.51$	$2.52 \pm 0.32$	$0.196 \pm 0.09$	$0.61 \pm 0.10$	33
	0 (♂) *	$1.64 \pm 0.18$	$1.22 \pm 0.15$	$0.092 \pm 0.03$	$0.31 \pm 0.03$	3
Norgestrel	30	$2.99 \pm 0.29$	$2.33 \pm 0.24$	$0.132 \pm 0.03$	$0.36 \pm 0.05$	45
	50	$2.81 \pm 0.32$	$2.25 \pm 0.27$	$0.129 \pm 0.05$	$0.33 \pm 0.04$	45
19- Norandrostendiona	30	$2.52 \pm 0.32$	$2.16 \pm 0.36$	$0.179 \pm 0.07$	$0.58 \pm 0.09$	42
	50	$2.70 \pm 0.36$	$2.18 \pm 0.42$	$0.158 \pm 0.05$	$0.56 \pm 0.04$	40
Acetato de Trembolona	30	$2.27 \pm 0.40$	$1.79 \pm 0.27$	$0.137 \pm 0.06$	$0.51 \pm 0.08$	28
	50	$2.44 \pm 0.23$	$1.92 \pm 0.17$	$0.160 \pm 0.04$	$0.55 \pm 0.05$	39
17 $\alpha$ -Metiltestosterona	30	$2.23 \pm 0.28$	$1.69 \pm 0.44$	$0.136 \pm 0.05$	$0.51 \pm 0.07$	40
	50	$2.20 \pm 0.30$	$1.73 \pm 0.23$	$0.123 \pm 0.06$	$0.49 \pm 0.08$	39

\* Clave: (♀) hembras, (♂) machos

Los resultados confirman la eficiencia masculinizante de los cuatro esteroides, al registrarse el 100% de machos en cualquiera de las dosis probadas, a excepción del 17 $\alpha$ -MT a dosis

de 30 mg/kg, quien registro el 60%. La sobrevivencia de los peces tratados fue superior a la del testigo, que entre las hembras y los machos ascendió al 80%, a excepción de los peces tratados con el ATB a dosis de 30 mg/kg de alimento, quienes registraron una sobrevivencia del 62.2%.

El análisis de varianza indicó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en los cuatro parámetros morfométricos analizados, confirmando la prueba de Tukey que los machos del grupo testigo difieren significativamente ( $P < 0.003$ ) de todos los grupos experimentales, a excepción del peso de los peces tratados con la dosis de 50 mg/kg de  $17\alpha$ -MT y la altura de los tratados con NOR en ambas dosis ( $P \geq 0.05$ ). El mismo patrón mostraron las hembras del testigo al diferir con todos los tratamientos ( $P < 0.004$ ), a excepción del peso de los peces expuestos a la dosis de 30 mg/kg de 19-NAD y 50 mg/kg de ATB ( $P \geq 0.05$ ), así como la longitud patrón de los tratados con la dosis de 30 mg/kg de NOR ( $P \geq 0.05$ ).

La prueba de Tukey aplicada entre las parejas de los tratamientos de los peces expuestos a los esteroides, indicó que en ninguno de los parámetros morfométricos analizados se determinaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre las dosis de 30 y 50 mg/kg de los cuatro esteroides probados.

Se consideró la longitud patrón y el peso como los parámetros que mejor explican el efecto de la aplicación de los esteroides en los peces. En el caso del primero, el análisis indicó que es el parámetro que muestra las mayores discrepancias entre los tratamientos, ya que los peces tratados con NOR y 19-NAD promovieron el mayor crecimiento en la talla y no se determinaron argumentos estadísticos para afirmar que existen diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre ellos, en ambas dosis; pero si con la talla de los peces expuestos a las dosis del ATB y la  $17\alpha$ -MT ( $P < 0.03$ ).

Con respecto al segundo, a pesar de que la prueba de Tukey muestra un menor número de discrepancias, se determinaron diferencias ( $P < 0.001$ ) entre NOR y la  $17\alpha$ -MT, en ambas dosis, y con 19-NAD a 30 mg/kg; además de entre las dosis de 50 mg/kg de ATB y  $17\alpha$ -MT ( $P < 0.05$ ).

Finalizado el periodo de experimentación, que consideró la aplicación de esteroides durante 60 días a los peces de una edad de 5 días, más 75 días que se alimentaron con alimento exento de esteroide y se mantuvieron en las mismas condiciones experimentales, se procedió a evaluar, 135 días después, el efecto que ocasiono que los peces no continuaran con los tratamientos en base a los esteroides, los cuales se describen a continuación.

### *Sobrevivencia*

La mayor sobrevivencia la presentaron los peces tratados con NOR, principalmente con la dosis de 30 mg/kg, en donde se registró el 95.6%; mientras que los peces del grupo testigo reportaron una sobrevivencia del 77.8%, superior o igual a los tratamientos de los peces tratados con el 19-NAD con dosis de 50 mg/kg y el ATB con la dosis de 30 mg/kg, quien registró la menor sobrevivencia con el 62.2% (figura 13).

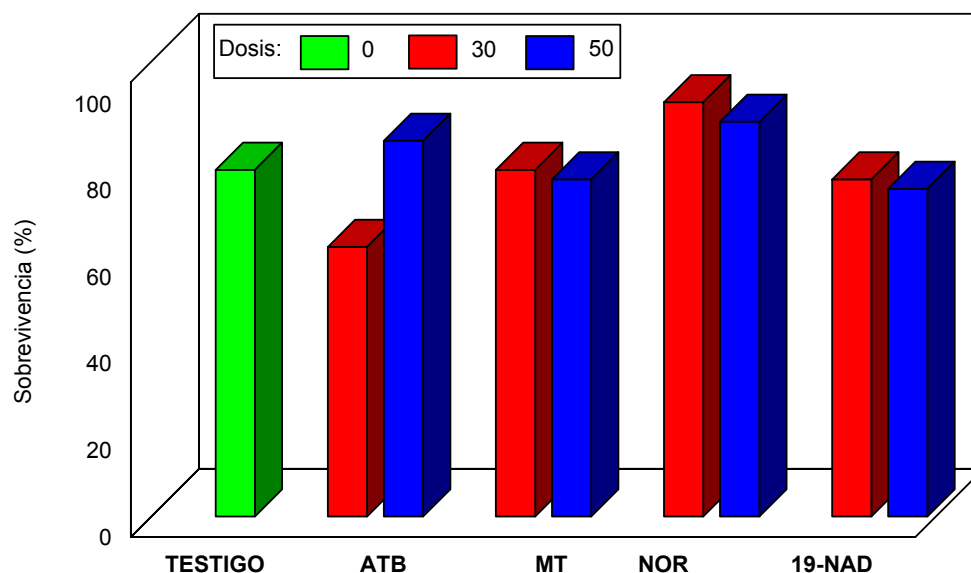


Figura 13. Eficacia de los esteroides: Acetato de Trembolona (ATB), 17 $\alpha$ -Metiltestosterona (17-MT), Norgestrel (NOR) y 19- Norandrostendiona (19-NAD) en la sobrevivencia de *X. helleri* (n = 45).

### Proporción de sexos

La eficiencia masculinizante de los cuatro esteroides en sus dos dosis fue contundente, al registrar que siete de los ocho tratamientos tuvieron una capacidad para masculinizar a los peces superior al 91% y el único tratamiento que no se ajustó a esta condición fue la 17 $\alpha$ -MT en dosis de 30 mg, que registró una eficiencia del 55.6%, que de cualquier forma fue exitosa si se considera que el testigo registró el 8.6% de machos. Los mejores tratamientos fueron el ATB a dosis de 30 mg, el 19-NAD y NOR, estos dos últimos presentaron peces intersexuales, sobretodo las dosis de 50 mg, como se aprecia en la figura 14.

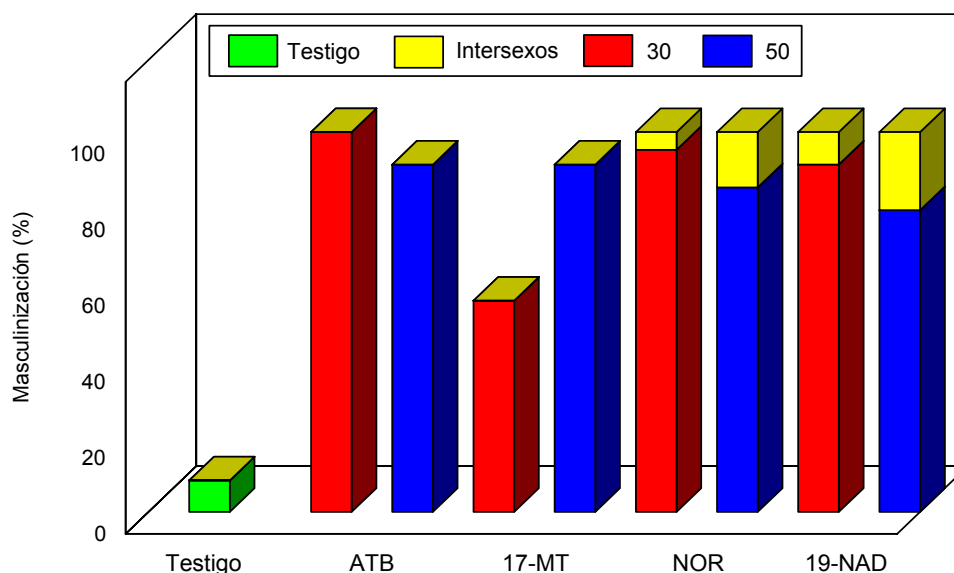


Figura 14. Eficacia de los esteroides: Acetato de Trembolona (ATB), 17 $\alpha$ -Metiltestosterona (17-MT), Norgestrel (NOR) y 19-Norandrostendiona (19-NAD) en la masculinización de *X. helleri* (n = 45).

### Indicadores del crecimiento

Analizando únicamente a los machos de los nueve tratamientos, se observa en la tabla 2 que la mayor talla, altura y peso la presentaron los peces tratados con los esteroides. Por el contrario, el testigo tuvo los peces más pequeños. El análisis de varianza indicó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) para los cuatro parámetros morfométricos analizados.

Tabla 2. Parámetros morfométricos de *X. helleri* al finalizar el experimento de la aplicación de esteroides, durante 135 días (promedio  $\pm$  desviación estándar).

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Long. total (cm)	Long. patrón (cm)	Peso (g)	Altura (cm)	Casos (n)
Testigo	0 (♀) *	3.72 $\pm$ 0.61	2.59 $\pm$ 0.52	0.392 $\pm$ 0.17	0.69 $\pm$ 0.13	32
	0 (♂) *	2.82 $\pm$ 0.52	2.03 $\pm$ 0.22	0.225 $\pm$ 0.08	0.40 $\pm$ 0.05	3
Norgestrel	30	4.93 $\pm$ 0.69	3.58 $\pm$ 0.54	0.290 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.07	41
	50	4.48 $\pm$ 0.52	3.12 $\pm$ 0.48	0.261 $\pm$ 0.03	0.42 $\pm$ 0.09	36
19- Norandrostendiona	30	4.01 $\pm$ 0.35	3.07 $\pm$ 0.34	0.515 $\pm$ 0.07	0.78 $\pm$ 0.10	32
	50	4.68 $\pm$ 0.43	3.25 $\pm$ 0.35	0.449 $\pm$ 0.05	0.72 $\pm$ 0.08	27
Acetato de Trembolona	30	3.81 $\pm$ 0.82	2.66 $\pm$ 0.87	0.399 $\pm$ 0.12	0.63 $\pm$ 0.09	28
	50	4.07 $\pm$ 0.69	2.73 $\pm$ 0.23	0.426 $\pm$ 0.13	0.69 $\pm$ 0.10	39
17 $\alpha$ -Metiltestosterona	30	3.82 $\pm$ 0.77	2.73 $\pm$ 0.25	0.398 $\pm$ 0.10	0.71 $\pm$ 0.08	36
	50	4.02 $\pm$ 0.88	2.68 $\pm$ 0.24	0.368 $\pm$ 0.09	0.64 $\pm$ 0.07	35

\* Clave: (♀) hembras, (♂) machos

Con respecto a los peces tratados, se estimó que las mayores tallas correspondieron a los tratados con NOR, principalmente a una dosis de 30 mg/kg, como se aprecia en la figura 15,

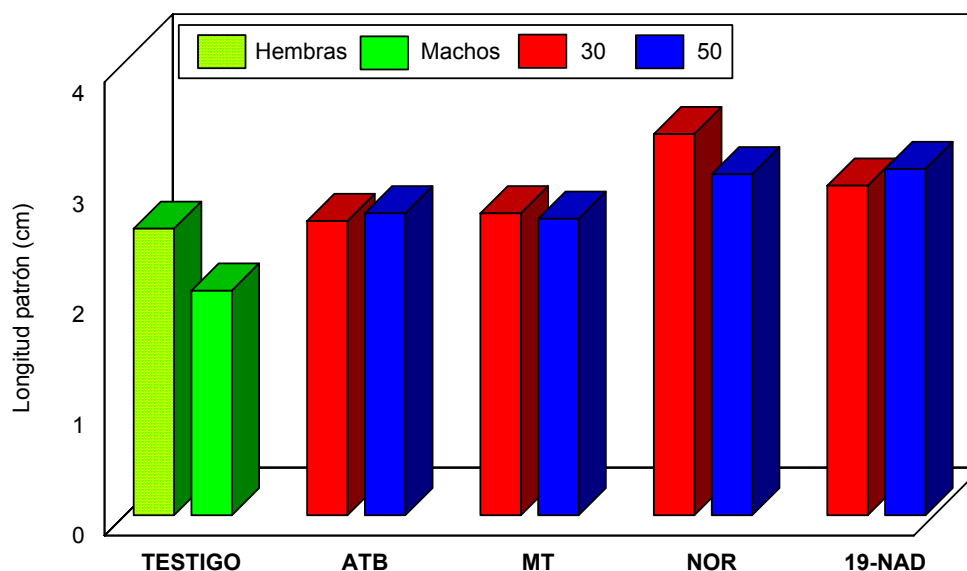


Figura 15. Efecto de los esteroides: Acetato de Trembolona (ATB), 17 $\alpha$ -Metiltestosterona (MT), Norgestrel (NOR) y 19-Norandrostendiona (19-NAD) en la talla de *X. helleri*.

que difieren significativamente ( $P < 0.003$ ) con todos los tratamientos, incluyendo a las hembras del testigo; mientras NOR a dosis de 50 mg/kg y 19-NAD en ambas dosis no presentan diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre ellos, pero si con el resto de los tratamientos ( $P < 0.04$ ). Un patrón similar se presenta entre el bloque de las hembras del testigo, el ATB y la  $17\alpha$ -MT en ambas dosis, ya que no se determinaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre ellos, pero si con el resto de los tratamientos ( $P < 0.001$ ). Los peces tratados con ambas dosis con  $17\alpha$ -MT presentaron las tallas más pequeñas, mientras que los machos del testigo difieren con todos los tratamientos ( $P < 0.001$ ), al ser los peces más pequeños.

En la figura 16 se presentan los registros del peso de los peces, donde se aprecia que los tratados con 19-NAD desarrollaron una mayor corpulencia en los peces, sobretodo con la dosis de 30 mg/kg, incluso sus registros fueron superiores a los de las hembras del grupo control. Por el contrario, los peces tratados con el NOR fueron los que presentaron los pesos más bajos. En general, los peces sometidos a los tratamientos con dosis de 30 mg/kg indujeron organismos más pesados que los sujetos a dosis de 50 mg/kg, a excepción de los tratados con el ATB.

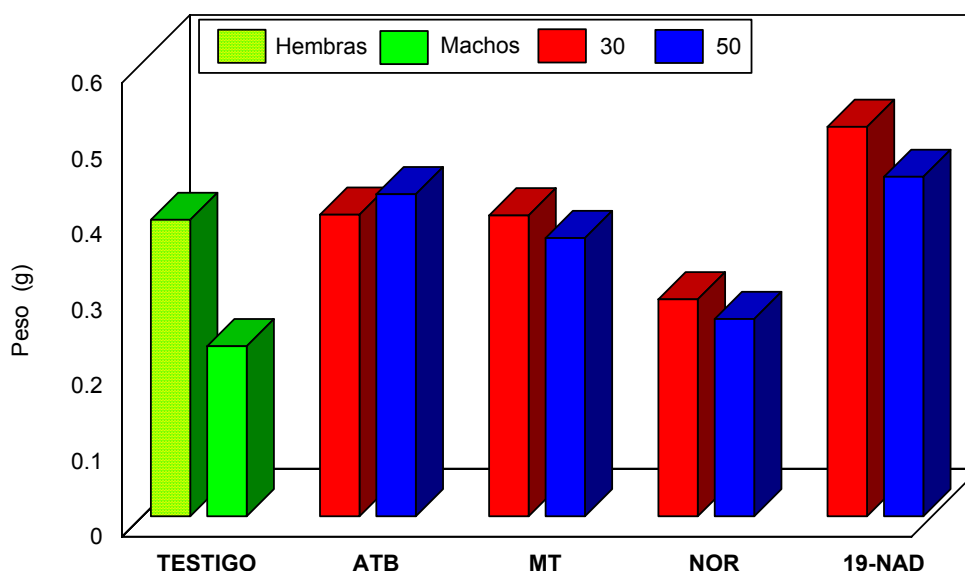


Figura 16. Efecto de los esteroides: Acetato de Trembolona (ATB),  $17\alpha$ -Metiltestosterona ( $17\alpha$ -MT), Norgestrel (NOR) y 19-Norandrostendiona (19-NAD) sobre el peso de *X. helleri*.

La prueba de Tukey diferenció tres bloques en donde no se manifestaron diferencias ( $P \geq 0.05$ ), siendo: entre el 19-NAD en ambas dosis y el ATB con dosis de 50 mg/kg, entre las dos dosis del ATB y el  $17\alpha$ -MT con las hembras del testigo y entre las dos dosis del NOR y los machos del testigo. Las diferencias estimadas fueron entre los bloques ( $P < 0.05$ ).

La altura se describe en la figura 17, observándose que los peces tratados con ambas dosis de 19-NAD son los que presentaron mayor altura, siguiendo los inducidos con  $17\alpha$ -MT con dosis de 30 mg/kg, entre estos tres tratamientos no se determinaron diferencias ( $P \geq 0.05$ ), pero si con el resto de los tratamientos ( $P < 0.02$ ). El bloque de MT y ATB en ambas dosis no mostró diferencia ( $P \geq 0.05$ ), pero si con los tratados con NOR en ambas dosis y los machos del testigo ( $P < 0.001$ ). El comportamiento entre el peso y la altura de los peces fue similar.

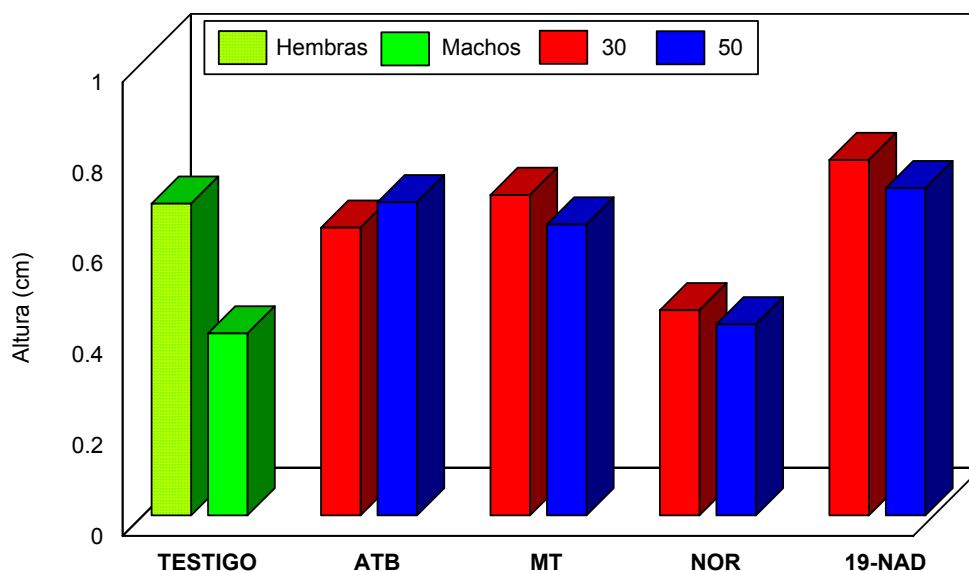


Figura 17. Efecto de los esteroides: Acetato de Trembolona (ATB),  $17\alpha$ -Metiltestosterona ( $17\alpha$ -MT), Norgestrel (NOR) y 19-Norandrostendiona (19-NAD) sobre la altura de *X. helleri*.

Con respecto al contraste  $\Psi_1$ , el análisis indicó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en la talla y el peso de los peces tratados con respecto a las hembras del testigo. El contraste  $\Psi_2$ , no detectó diferencias ( $P \geq 0.05$ ) ni en la talla ni en el peso de los peces tratados con 30 y 50 mg/kg. Por último, el contraste  $\Psi_3$  determinó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en la talla y el peso de los peces tratados con NOR con respecto a los tratados con el 19-NAD y el ATB.

### *Peces intersexuales*

Se clasifico como un pez intersexual al organismo que comparte características morfológicas que corresponden a las hembras y los machos, en el primer caso, se observo una mayor corpulencia que se reflejo en la talla y en el peso, la presencia del punto grávido y una coloración del cuerpo más opaca; mientras que en el segundo caso, se observo principalmente la modificación de la aleta caudal en forma de gonopodio y en algunos casos, la prolongación de los radios inferiores de la aleta caudal que originan la “espada”, como se observa en la figura 18.

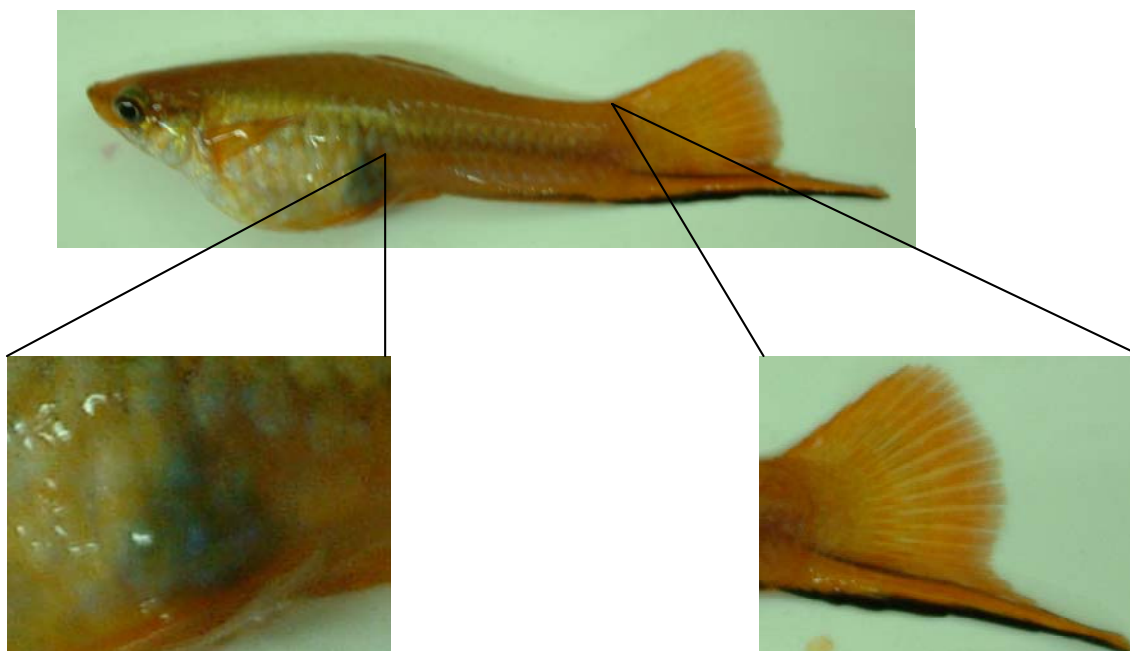


Figura 18. Ejemplar intersexual de *Xiphophorus helleri* al termino de un tratamiento con el esteroide 19-Androstenediona. El recuadro inferior izquierdo muestra el punto grávido característico de las hembras y del lado derecho se observa la prolongación de los radios inferiores de la aleta caudal en forma de espada.

Se considero conveniente describir los resultados por separado de los peces clasificados como intersexuales, que se registraron en los tratamientos del NOR y 19-NAD, como se describe en la tabla 3.



Tabla 3. Parámetros morfométricos de los peces intersexuales de *X. helleri* al finalizar el experimento (promedio  $\pm$  desviación estándar).

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Long. total (cm)	Long. patrón (cm)	Peso (g)	Altura (cm)	Intersexos * % (n)
Norgestrel	30	5.08 $\pm$ 0.16	3.73 $\pm$ 0.16	0.471 $\pm$ 0.14	0.56 $\pm$ 0.06	4.7 (2)
	50	4.87 $\pm$ 0.46	3.51 $\pm$ 0.28	0.415 $\pm$ 0.19	0.51 $\pm$ 0.07	12.2 (5)
19-Norandrostendiona	30	4.71 $\pm$ 0.22	3.81 $\pm$ 0.19	0.673 $\pm$ 0.21	0.91 $\pm$ 0.18	8.6 (3)
	50	5.14 $\pm$ 0.52	4.02 $\pm$ 0.31	0.647 $\pm$ 0.23	0.88 $\pm$ 0.16	20.6 (7)

\* El porcentaje de intersexos (%) se estimó en base al número de casos (n) en relación a la sobrevivencia al finalizar la evaluación.

Los resultados muestran que los peces intersexuales crecieron más que los machos inducidos por los esteroides y las hembras del grupo testigo, como se aprecia al contrastar los parámetros citados en la tabla 2, principalmente el tratamiento con 19-NAD en dosis de 50 mg, el cual generó más intersexuales, mientras que el tratamiento con el mismo esteroide en dosis de 30 mg registro el 8.6%. Por el contrario, el tratamiento con NOR en dosis de 30 mg registro el menor porcentaje, mientras que con dosis de 50 mg se registro el 12.2%.

El análisis de varianza indicó diferencias significativas en la talla de los intersexuales debido a la dosis ( $P < 0.001$ ), pero no en el tipo de esteroide ni a la interacción de estos dos factores ( $P > 0.05$ ). La prueba de Tukey confirmo que la única diferencia ( $P < 0.032$ ) fue entre las dosis de 50 mg/kg de los esteroides. Mientras que para el peso de estos peces no se determinaron diferencias ( $P \geq 0.05$ ) debido al tipo de esteroide ni a la dosis, pero si a la interacción tipo – dosis ( $P < 0.002$ ). El peso de los peces es la variable que muestra la mayor discrepancia, sin embargo la prueba de Tukey no determino ninguna diferencia ( $P \geq 0.05$ ).

#### *Modelos de crecimiento*

Con base en el promedio de la longitud patrón obtenido por quincena, se estimó la longitud máxima ( $L_{\infty}$ ) para cada uno de los tratamientos; estimándose posteriormente los parámetros del modelo de crecimiento con todos los casos registrados. Los resultados obtenidos se integran en la tabla 4

Tabla 4. Parámetros de los modelos de crecimiento de *X. helleri* estimados a partir de la aplicación de distintas dosis de esteroides.

<b>Tratamiento</b>	<b>Dosis</b> (mg/kg)	<b>L<sup>∞</sup></b> (cm)	<b>k ± S<sub>k</sub> *</b> (cm/día)	<b>t<sub>0</sub></b> días	<b>r<sup>2</sup></b> %	<b>Casos</b> (n)
Acetato de Trembolona	30	2.92	0.29 ± 0.014	-0.29	65.2	206
	50	2.92	0.31 ± 0.011	0.05	70.4	325
17 $\alpha$ -Metiltestosterona	30	3.02	0.25 ± 0.011	0.04	63.6	311
	50	2.92	0.28 ± 0.014	0.19	57.1	307
Norgestrel	30	3.59	0.34 ± 0.02	0.31	77.1	387
	50	3.54	0.27 ± 0.014	0.30	77.7	369
19-Norandrostendiona	30	3.44	0.26 ± 0.024	0.12	78.0	315
	50	3.70	0.23 ± 0.011	0.03	78.2	306

\* Desviación estándar del coeficiente de crecimiento

Los resultados indican que la mayor tasa de crecimiento (k) fue la que se obtuvo con los peces tratados con NOR con la dosis de 30 mg/kg y la menor fue registrada en los peces que se les aplicó 19-NAD con dosis de 50 mg/kg, no obstante sus estimaciones fueron compensadas con una mayor longitud máxima (L<sup>∞</sup>). Los peces tratados con ambas dosis de ATB tuvieron la segunda mejor tasa de crecimiento, mientras que los expuestos a la 17 $\alpha$ -MT muestran coeficientes de crecimiento intermedios. La mayor variabilidad (S<sub>k</sub>) estimada fue debido al 19-NAD con dosis de 30 mg/kg y paradójicamente el tratamiento con el mismo esteroide en dosis de 50 mg/kg mostró la menor variabilidad, al igual que para el ATB a la misma dosis y para la 17 $\alpha$ -MT con dosis de 30 mg/kg. El número de casos registrado en todos los modelos fue superior a los 305, a excepción del tratamiento con ATB a dosis de 30 mg/kg.

A pesar de que los modelos de crecimiento registraron un coeficiente de determinación (r<sup>2</sup>) que fluctúa entre el 57.1 y 78.2% se consideran aceptables los modelos estimados, como se confirma en el análisis gráfico que se realizó con cada uno de los ocho modelos. Los porcentajes de explicación más bajos son los debidos a los modelos con 17 $\alpha$ -MT, mientras que el bloque para el 19-NAD presentó el mayor porcentaje de explicación. La prueba de

covarianza determino que al menos uno de los coeficientes de crecimiento ( $k$ ) de los tratamientos difiere significativamente ( $P < 0.001$ ) del resto.

La figura 19, muestra el crecimiento de los peces expuestos al acetato de trembolona, en donde se observa en los dos primeros planos que los valores de la longitud estimada para cada tratamiento se localizan dentro de la distancia intercuartil de los diagramas de caja, incluso se encuentran cercanos a la mediana, lo cual indica que los dos modelos describen en forma adecuada el crecimiento de los peces. El tercer plano, muestra la comparación de las curvas de longitud, la dosis de 50 mg/kg mostró valores más grandes, no obstante la prueba de Tukey no determino diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ).

La figura 20, muestra el crecimiento de los peces expuestos a la  $17\alpha$ -metiltestosterona, en donde se destaca en los dos primeros planos que la distancia intercuartil de los diagramas de caja se incrementa, así como el número de casos extremos. Sin embargo, las curvas estimadas por los modelos describen adecuadamente el crecimiento de los peces. El tercer plano muestra un crecimiento similar entre ambos tratamientos, confirmando que no habo diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ), como en el caso de los modelos con ATB.

La figura 21, muestra el crecimiento de los peces expuestos al norgestrel, observándose en los dos primeros planos que se incrementa el tamaño de los diagramas de caja, con respecto a los cuatro modelos anteriores, aunado a la presencia de un mayor número de casos extremos que explican la variabilidad que se describe en la tabla 3. A pesar de lo anterior, los modelos describen en forma adecuada el crecimiento de los peces. El tercer plano muestra el contraste de las curvas de crecimiento, que difieren significativamente ( $P < 0.002$ ) al presentar una mayor tasa de crecimiento los peces de la dosis de 30 mg/kg.

La figura 22, muestra el crecimiento de los peces expuestos a la 19- norandrostendiona, donde se observa en los dos primeros planos un patrón similar a los modelos anteriores, es decir, los dos modelos describen en forma adecuada el crecimiento de los peces, ya que los valores de la longitud estimada para cada tratamiento se localizan dentro de la distancia intercuartil de los diagramas de caja y se encuentran cercanos a la mediana. El tercer plano muestra

## Acetato de Trembolona

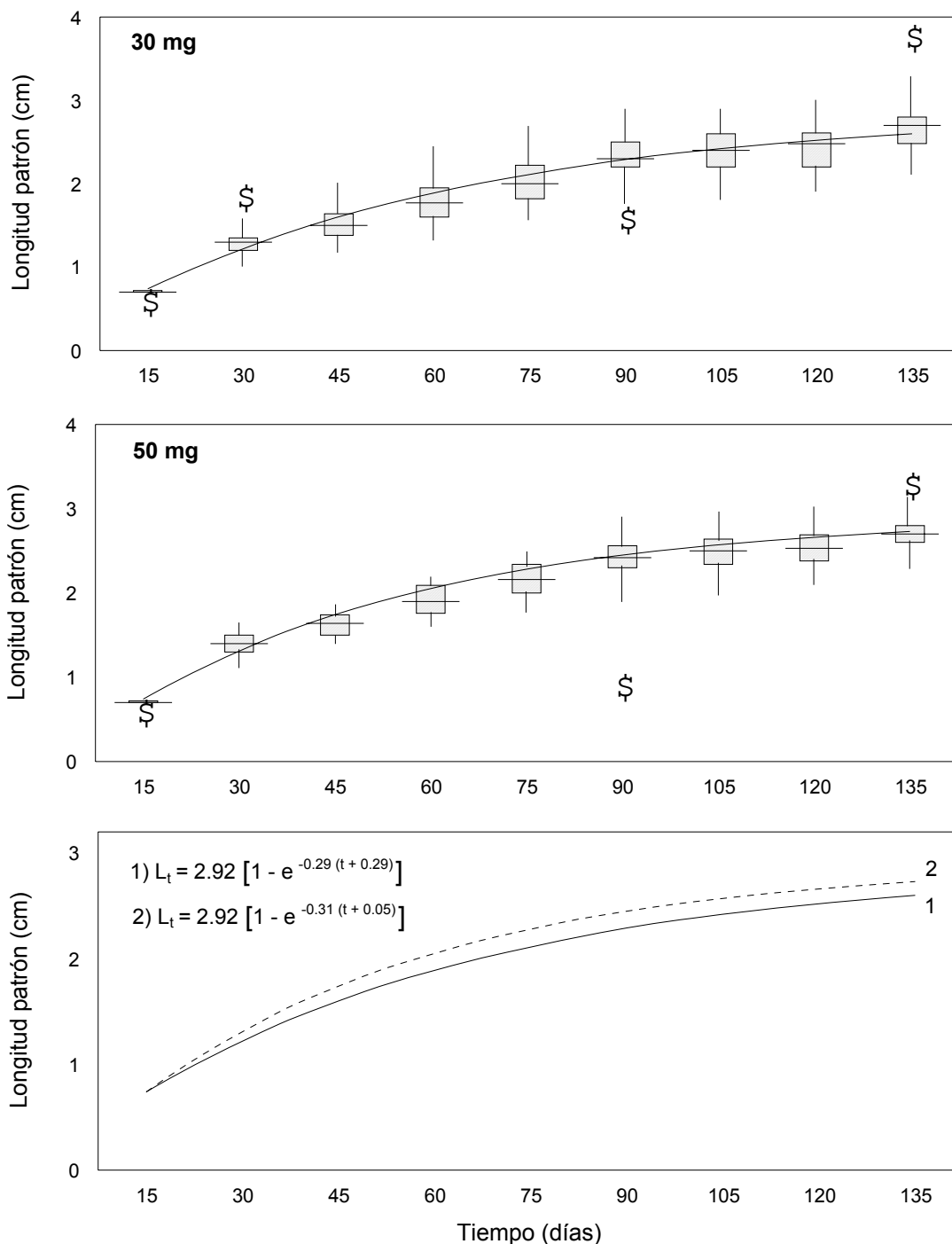


Figura 19. Efecto del Acetato de Trembolona en el crecimiento de *X. helleri*. Los dos primeros planos describen la longitud estimada por el modelo, la distribución del error y los casos extremos por quincena. El tercer plano compara las curvas de crecimiento y su ecuación.

## *17 $\alpha$ -Metiltestosterona*

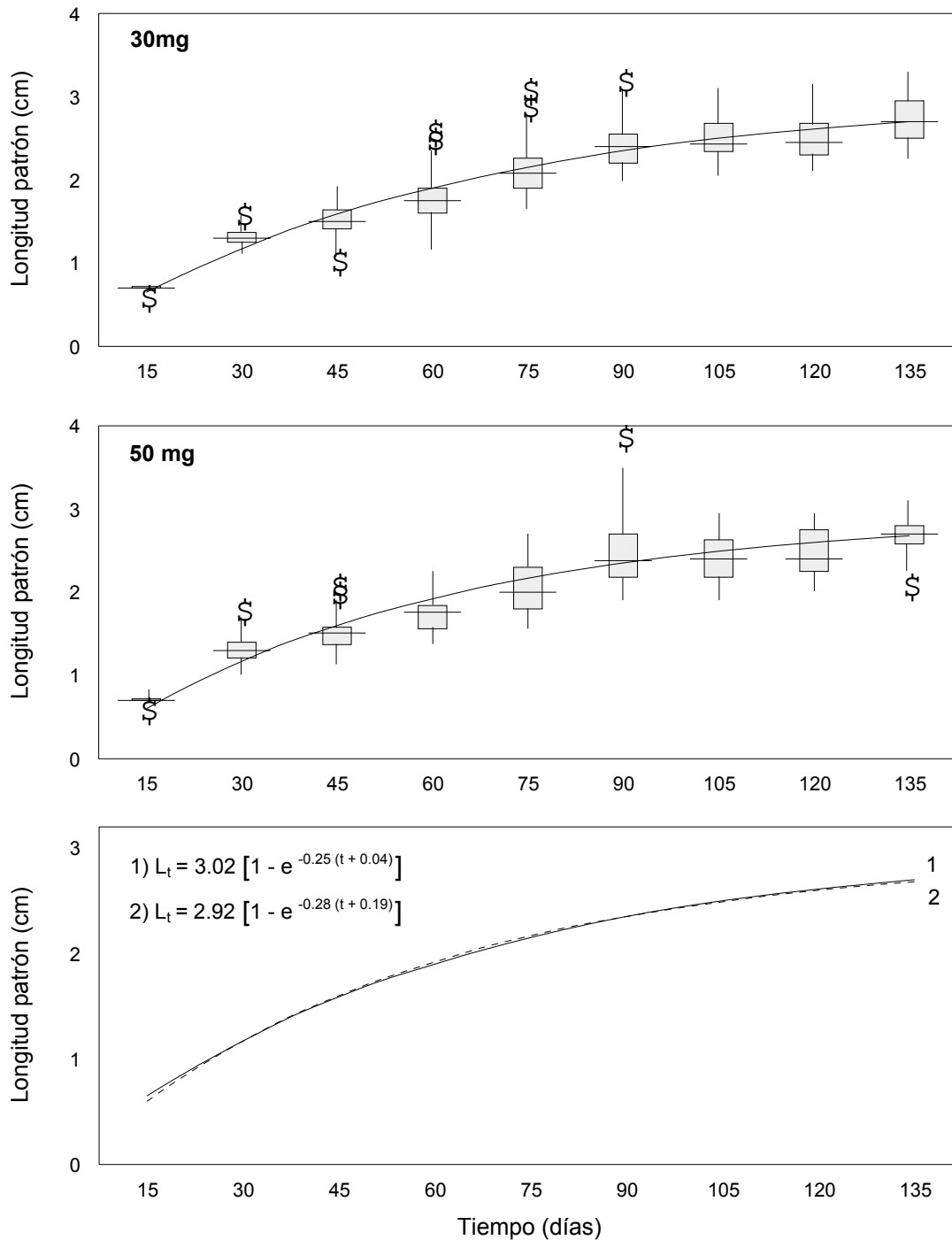


Figura 20. Efecto del  $17\alpha$ -Metiltestosterona en el crecimiento de *X. helleri*. Los dos primeros planos describen la longitud estimada por el modelo, la distribución del error y los casos extremos por quincena. El tercer plano compara las curvas de crecimiento y su ecuación.

## Norgestrel

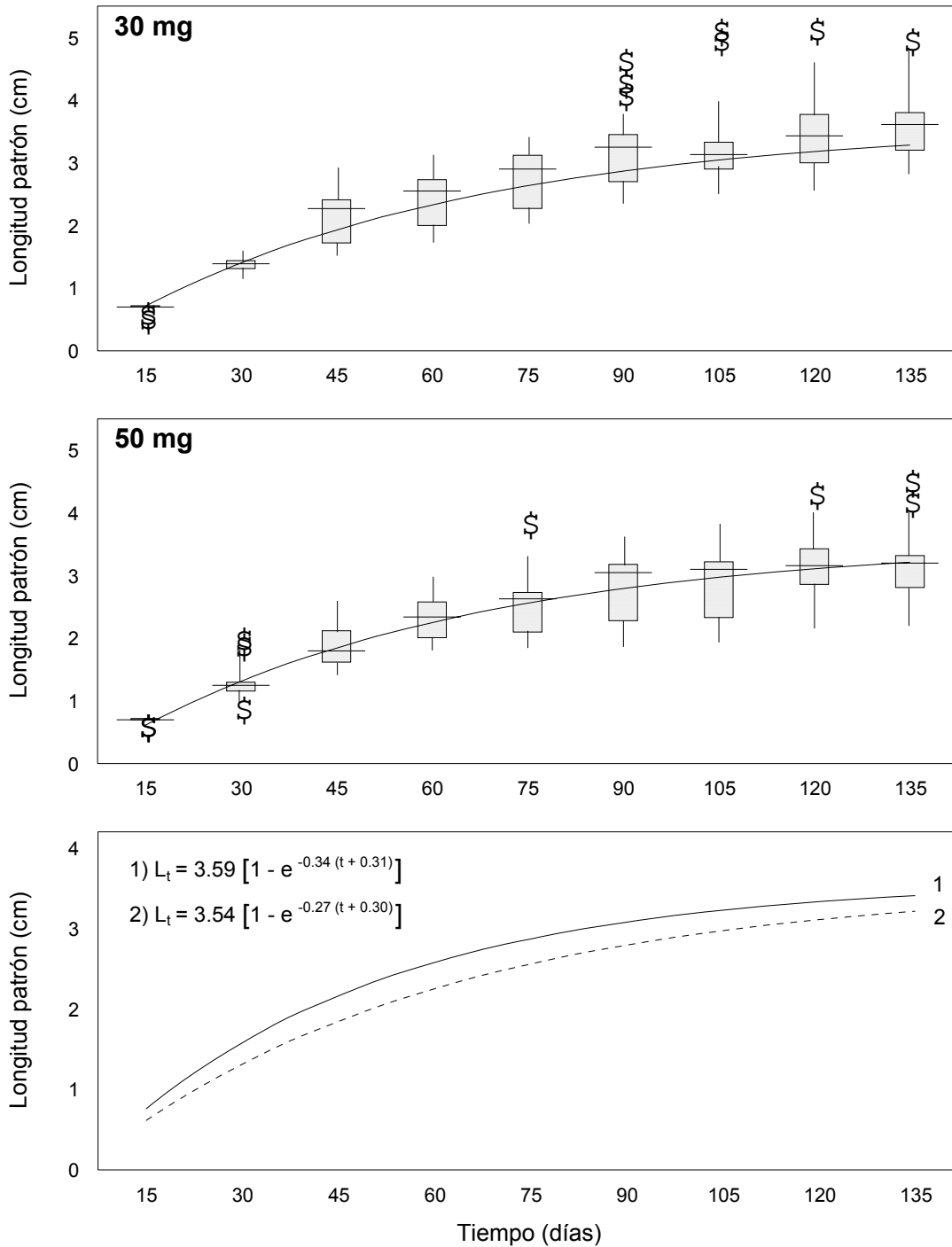


Figura 21. Efecto del Norgestrel en el crecimiento de *X. helleri*. Los dos primeros planos describen la longitud estimada por el modelo, la distribución del error y los casos extremos por quincena. El tercer plano compara las curvas de crecimiento y su ecuación.

## 19-Norandrostendiona

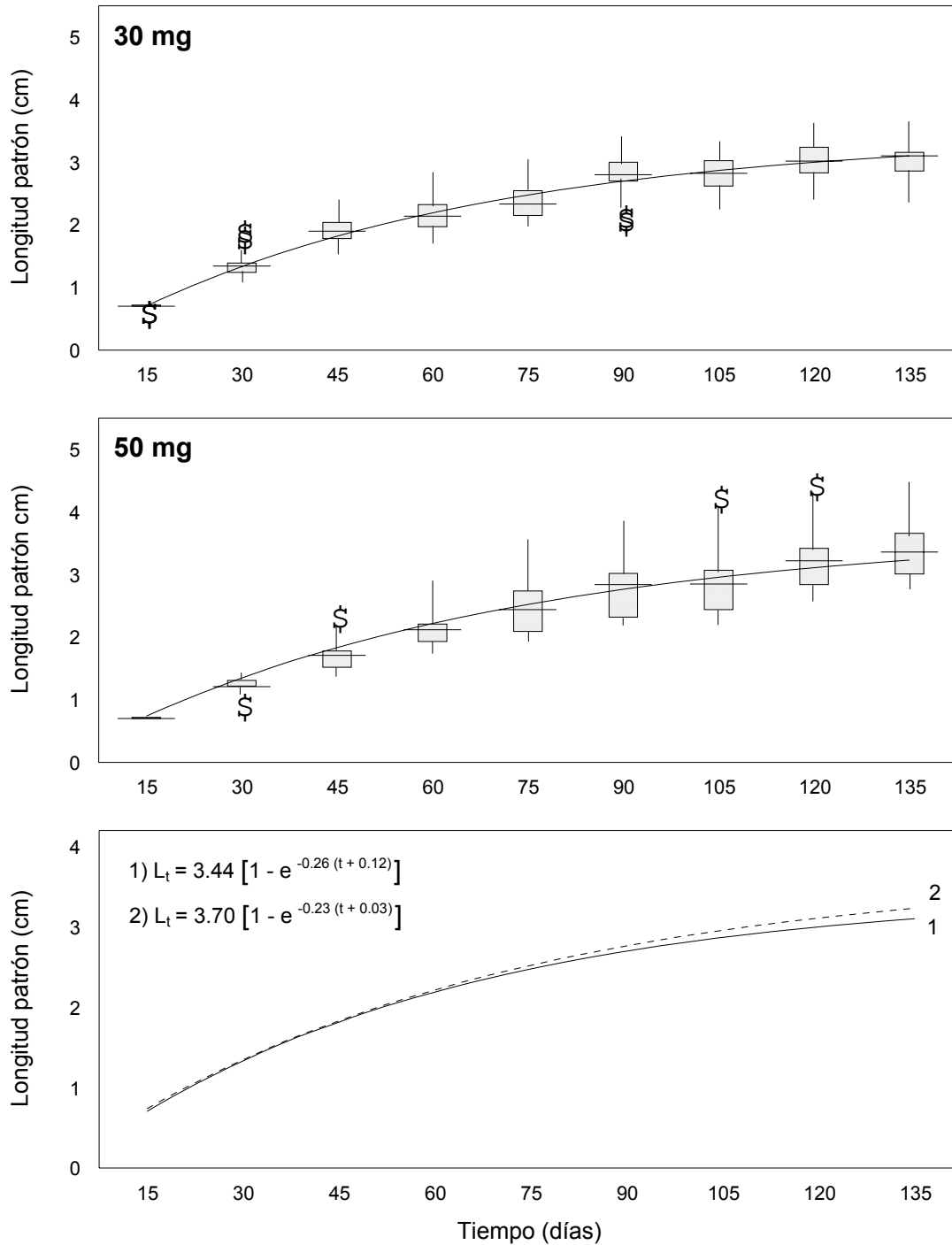


Figura 22. Efecto del 19- Norandrostendiona en el crecimiento de *X. helleri*. Los dos primeros planos describen la longitud estimada por el modelo, la distribución del error y los casos extremos por quincena. El tercer plano compara las curvas de crecimiento y su ecuación.

que de haberse continuado la evaluación el crecimiento de los peces de la dosis de 50 mg/kg hubiera sido superior al de 30 mg/kg. Sin embargo, no se determinaron diferencias ( $P \geq 0.05$ ).

La figura 23 recapitula las curvas de crecimiento de los peces de todos los tratamientos, se observa que la correspondiente al NOR con la dosis de 30 mg/kg presentó el mayor crecimiento y difiere significativamente ( $P < 0.001$ ) con el resto de los tratamientos. La curva de crecimiento del 19-NAD con 50 mg/kg fue similar al del NOR a la misma dosis, pero ambas curvas fueron superiores a las del 19-NAD con dosis de 30 mg/kg, aunque no se determinaron diferencias entre ellos ( $P \geq 0.05$ ), pero si con el bloque de las curvas de crecimiento del ATB y la 17 $\alpha$ -MT en ambas dosis ( $P < 0.003$ ), mientras que las curvas de crecimiento inducida por este último esteroide fueron similares, pero ambas fueron superiores a la trayectoria del ATB con la dosis de 30 mg/kg, pero no de 50 mg/kg.

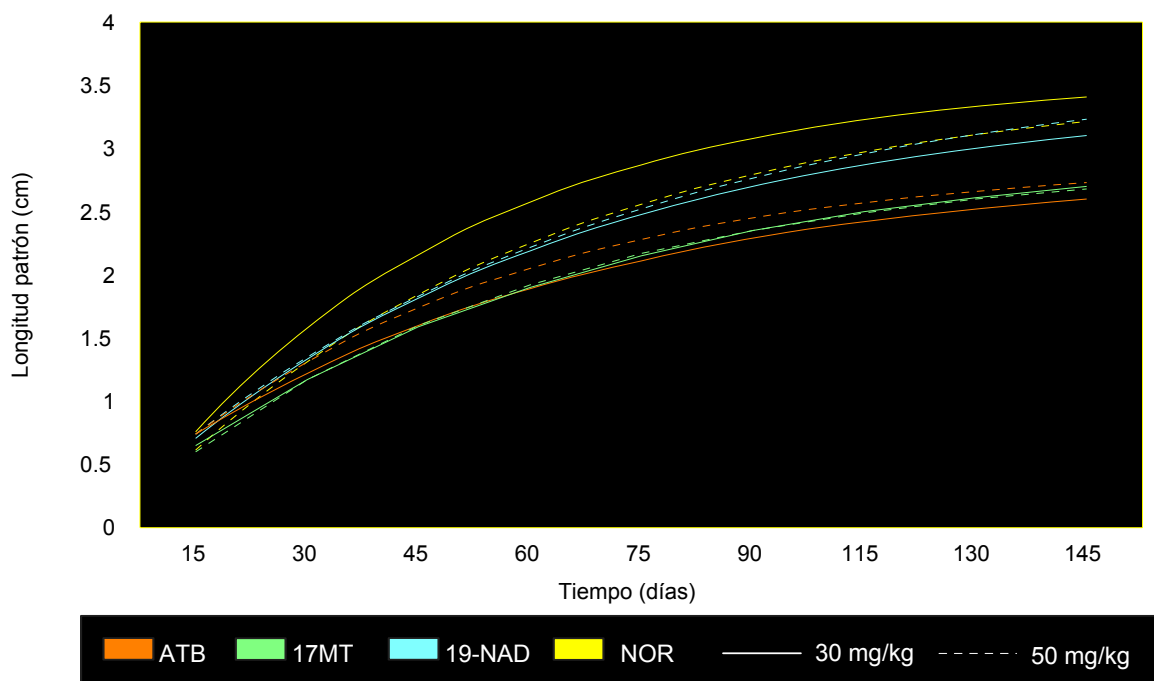


Figura 23. Efecto de los esteroides: Acetato de Trembolona (ATB), 17 $\alpha$ -Metiltestosterona (17-MT), Norgestrel (NOR) y 19-Norandrostendiona (19-NAD) sobre el crecimiento de *X. helleri*.



### Beneficio económico

Para fines prácticos, el diagnóstico del estado económico del cultivo se realizó bajo la consideración de que los peces intersexuales se clasificaron como machos. El análisis de las encuestas indicó que el precio estimado por pareja es de \$ 7.16, de los cuales \$ 5.43 ± 0.58 corresponden al macho y \$ 1.73 ± 0.38 a la hembra, lo cual indica que el macho representa el 75.8% del precio total de una pareja, o dicho en otras palabras, se cotiza 3.14 veces más que la hembra. En la figura 24, se muestra el beneficio económico obtenido para *X. helleri* debido a la aplicación de los esteroides utilizados, indicado por el valor promedio ± desviación estándar del precio que tendrían los peces en el mercado.

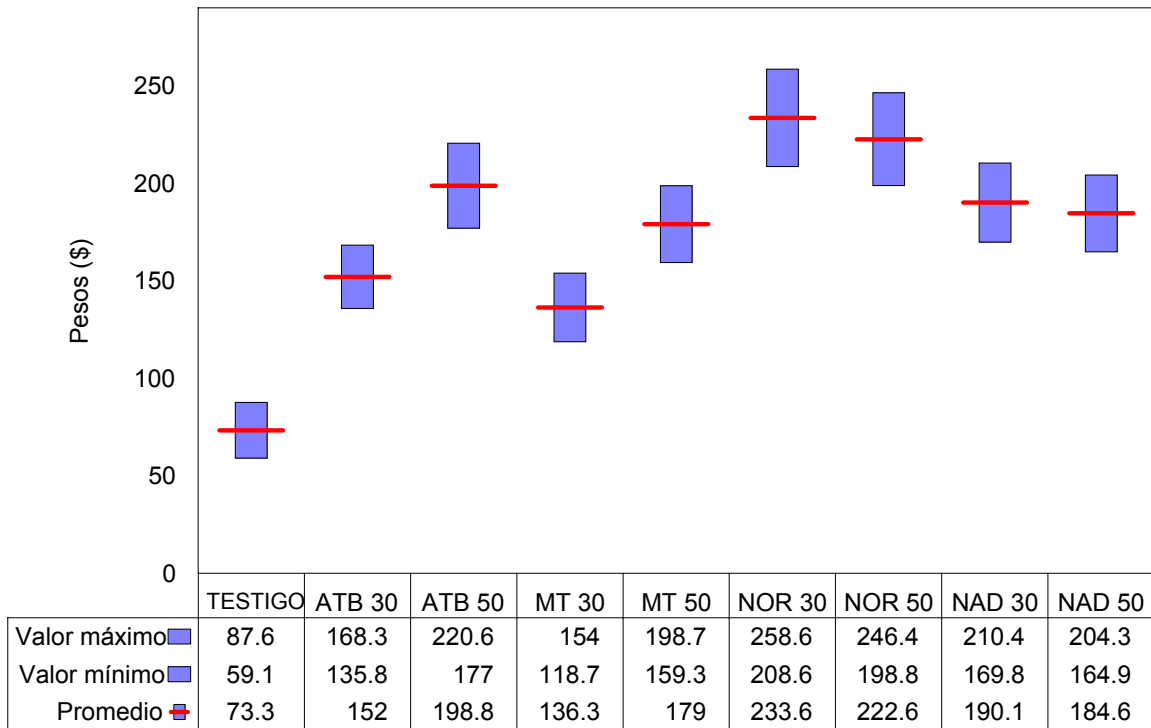


Figura 24. Efecto de los esteroides: Acetato de Trembolona (ATB), 17 $\alpha$ -Metiltestosterona (17-MT), Norgestrel (NOR) y 19-Norandrostendiona (19-NAD) sobre el precio comercial de *X. helleri* en el mercado.

En todos los tratamientos de los peces con esteroides el beneficio económico fue notablemente mayor al obtenido para el grupo testigo, destacando los peces tratados con

ambas dosis del NOR, ya que se estimó un ingreso por concepto de venta de \$ 233.6 ± 25.0 y \$ 222.6 ± 23.8 para la dosis de 30 y 50 mg/kg, respectivamente. El tercer mejor tratamiento fue el obtenido con el ATB a dosis de 50 mg/kg, quien registró un beneficio de \$ 198.8 ± 21.8, pero a dosis de 30 mg/kg la ganancia estimada fue de \$ 152.0 ± 16.2. Mientras que los tratamientos del 19-NAD registraron un ingreso de \$ 190.1 ± 20.3 y \$ 184.6 ± 19.7 para las dosis de 30 y 50 mg/kg, respectivamente. Finalmente, aún cuando el tratamiento de 17α-MT a dosis de 30 mg/kg fue el menos conveniente el beneficio que se estimó fue de \$ 136.3 ± \$17.7, al obtener una mayor recaudación que el grupo testigo, mientras que el mismo esteroide con dosis de 50 mg/kg obtuvo un beneficio de \$179.1 ± 19.7.

### 3 Segundo experimento

Una vez seleccionado el esteroide norgestrel como el más eficiente compuesto para agregar valor al cultivo comercial de *X. helleri*, se procedió a evaluar la edad más adecuada para aplicar el tratamiento con base a los mismos indicadores de eficiencia utilizados en el primer experimento, para lo cual se generó la información para los días 18 y 24, considerando que el día 5 fue evaluado previamente.

#### *Sobrevivencia*

Los peces que se les administró el norgestrel con la dosis de 30 mg/kg tuvieron la mayor sobrevivencia, sobretodo cuando fueron tratados a la edad de 24 días, donde se obtuvo el 100% de sobrevivencia. Incluso sus registros fueron superiores a los peces que no se les administró el esteroide; por el contrario, los peces tratados con la dosis de 50 mg/kg tuvieron la menor sobrevivencia, a excepción del tratamiento que inicio a los 5 días de edad, al obtener una sobrevivencia del 91.1%. La mayor mortalidad la presentaron los peces tratados a la edad de 18 días con la dosis de 50 mg/kg, con el 66% de sobrevivencia, como se aprecia en la figura 25.

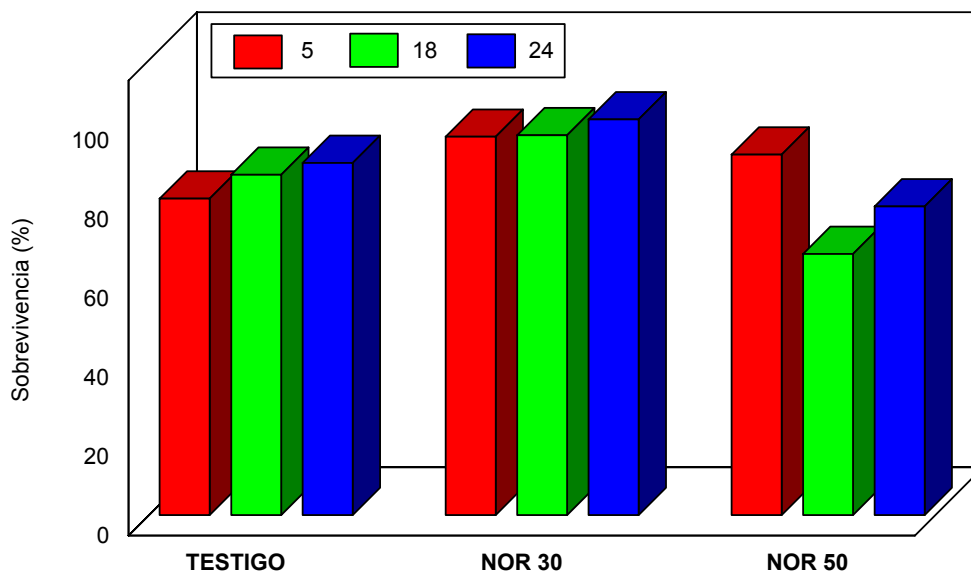


Figura 25. Efecto del esteroide Norgestrel sobre la sobrevivencia de *X. helleri*, aplicado a tres distintas edades: 5, 18 y 24 días (n = 45).

### Proporción de sexos

La eficacia masculinizante del Norgestrel se observa en la figura 26, al contrastarlo con los tratamientos en donde no se aplicó el esteroide, quienes obtuvieron entre el 8 y 12% de machos. Además, se aprecia que la dosis de 30 mg/kg en las edades de 5 y 18 días fueron las más eficaces al inducir porcentajes de masculinización superiores al 94%; por el contrario, la edad de 24 días registró los menores porcentajes de machos, en especial a 50 mg/kg. Un caso especial fue el tratamiento con la dosis de 50 mg/kg a la edad de 18 días quien registró un porcentaje de masculinización superior al 90%.

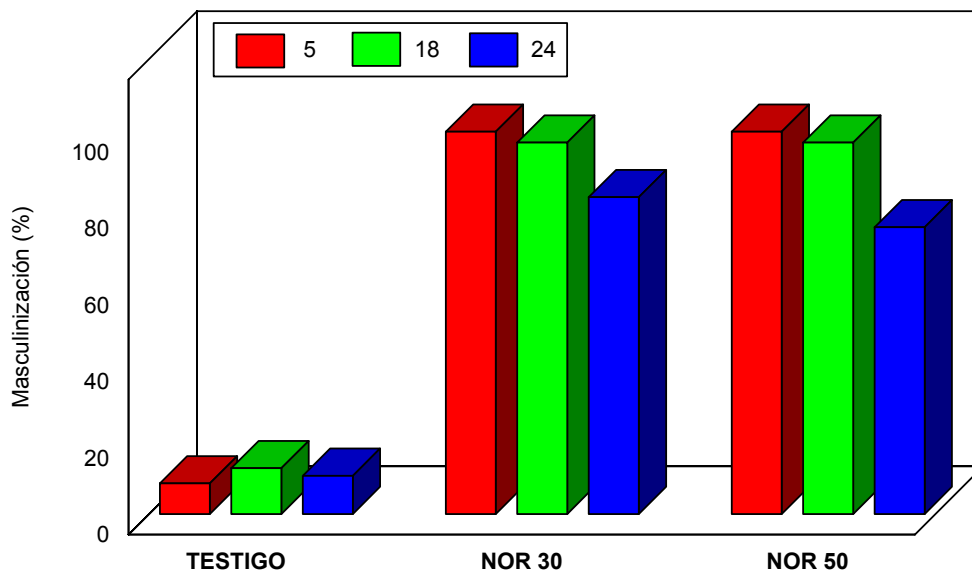


Figura 26. Efecto del esteroide Norgestrel sobre la masculinización de *X. helleri*, aplicado a tres distintas edades: 5, 18 y 24 días (n = 45).

Es importante mencionar que al término de la administración del esteroide se registró el 100% de machos en cualquiera de los tratamientos analizados, independientemente de la edad o la dosis aplicada, y al igual que en los tratamientos del experimento anterior, después de 70 días que se alimentaron con alimento exento de esteroide, se registró la presencia de peces intersexuales al terminar la evaluación, como se aprecia en la figura 27.

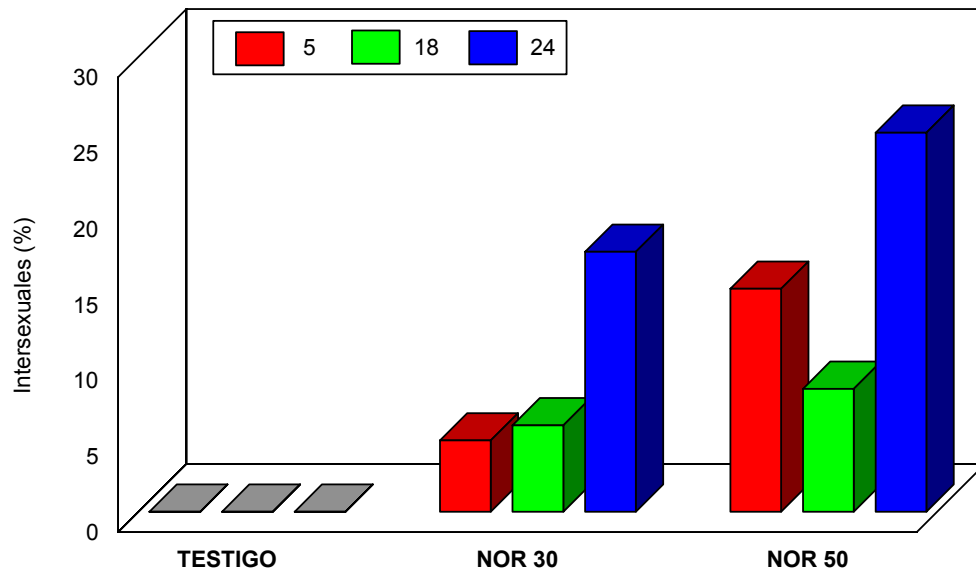


Figura 27. Presencia de peces intersexuales debido al Norgestrel y la edad en *X. helleri* (n = 45).

En esta figura se observa, que los peces de 5 días tratados con dosis de 30 mg/kg generaron la menor cantidad de intersexuales, por el contrario, los peces tratados a una mayor edad inducen dicha condición, al igual que cuando se incrementa la concentración del esteroide, ya que la edad y dosis de 50 mg/kg favorecen la presencia de dichos peces. Un tratamiento que no reflejo este patrón fue con la dosis de 30 mg/kg a una edad de 24 días, que registró una mayor proporción de intersexuales que con las dosis de 50 mg/kg a la edad de 5 y 18 días. El grupo testigo no presento intersexuales.

#### *Indicadores de crecimiento*

Analizando únicamente a los machos de las tres edades consideradas, se observa en la tabla 5 que la mayor talla, altura y peso la presentaron los peces tratados con el esteroide, a excepción de la altura de los peces del testigo en las edades de 18 y 24 días. Mientras que las hembras del grupo testigo presentaron un mayor peso y altura, pero con menor talla que los machos tratados de cualquier edad. Al igual que en la segunda fase, el análisis de varianza indicó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en los cuatro parámetros morfométricos analizados (tabla 5).

Tabla 5. Parámetros morfométricos de *X. helleri* al finalizar el experimento de la aplicación de Norgestrel, durante 135 días (promedio  $\pm$  desviación estándar).

Edad (días)	Dosis (mg/kg)	Long. total (cm)	Long. patrón (cm)	Peso (g)	Altura (cm)	Casos (n)
5	0 (♀)	3.72 $\pm$ 0.61	2.59 $\pm$ 0.52	0.392 $\pm$ 0.17	0.69 $\pm$ 0.13	32
	0 (♂)	2.82 $\pm$ 0.52	2.03 $\pm$ 0.22	0.225 $\pm$ 0.08	0.40 $\pm$ 0.05	3
	30	4.93 $\pm$ 0.69	3.58 $\pm$ 0.54	0.290 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.07	41
	50	4.48 $\pm$ 0.52	3.12 $\pm$ 0.48	0.261 $\pm$ 0.03	0.42 $\pm$ 0.09	36
18	0 (♀)	4.79 $\pm$ 0.90	3.77 $\pm$ 0.34	1.09 $\pm$ 0.09	1.01 $\pm$ 0.23	34
	0 (♂)	3.71 $\pm$ 0.82	2.99 $\pm$ 0.31	0.46 $\pm$ 0.11	0.52 $\pm$ 0.16	5
	30	5.02 $\pm$ 0.38	3.20 $\pm$ 0.43	0.71 $\pm$ 0.12	0.53 $\pm$ 0.24	40
	50	4.80 $\pm$ 0.47	3.08 $\pm$ 0.17	0.69 $\pm$ 0.05	0.44 $\pm$ 0.06	27
24	0 (♀)	5.02 $\pm$ 1.07	3.86 $\pm$ 0.43	1.04 $\pm$ 0.13	1.18 $\pm$ 0.37	36
	0 (♂)	3.85 $\pm$ 0.86	3.04 $\pm$ 0.36	0.54 $\pm$ 0.14	0.62 $\pm$ 0.26	4
	30	4.92 $\pm$ 0.62	3.39 $\pm$ 0.43	0.82 $\pm$ 0.13	0.61 $\pm$ 0.20	41
	50	4.88 $\pm$ 0.29	3.58 $\pm$ 0.53	0.87 $\pm$ 0.19	0.87 $\pm$ 0.48	28

\* Clave: (♀) hembras, (♂) machos

El análisis de varianza para la longitud patrón indicó diferencias significativas debido a la edad ( $P < 0.001$ ), pero no a la dosis ( $P \geq 0.05$ ), mientras que la interacción entre estos dos factores indicó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ). Las mayores tallas correspondieron a los peces inducidos con el esteroide a una dosis de 30 mg/kg, a excepción del tratamiento de los peces a una edad de 24 días con dosis de 50 mg/kg, quien registró la misma talla que los peces tratados con una dosis de 30 mg/kg a la edad de 5. En menor proporción destacan los peces tratados con una dosis de 30 mg/kg a la edad de 24 días, entre estos tres tratamientos no se determinaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) pero si con el resto de los tratamientos. La prueba de Tukey indicó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) entre los peces del testigo a una edad de 5 días y el resto de los tratamientos, incluyendo a los peces de los testigos de la edad de 18 y 24 días, como se aprecia en la figura 28.

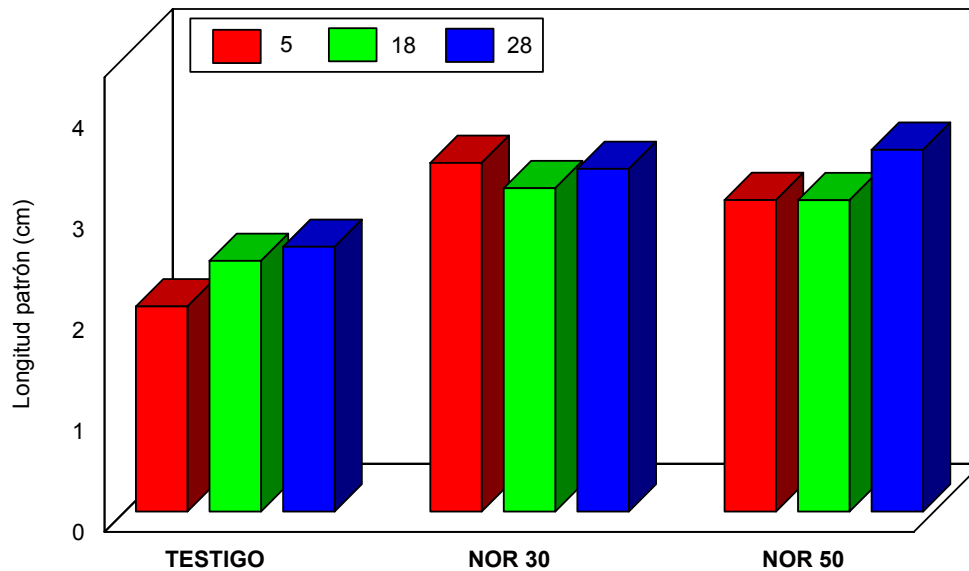


Figura 28. Efecto del esteroide Norgestrel sobre la talla de *X. helleri*, aplicado a tres distintas edades: 5, 18 y 24 días (n = 45).

Con respecto al peso de los peces, el análisis de varianza indicó que no hay diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) debido a la edad, la dosis ni en la interacción entre estos dos factores. Los resultados indican que a mayor edad y dosis de esteroide mayor es la acumulación de biomasa. Por el contrario, los peces tratados a los 5 días no incrementaron su biomasa, situación que difirió con la respuesta de los peces tratados a la edad de 18 y 24 días, quienes incrementaron su volumen en más del 50%, con respecto al peso estimado de su respectivo testigo (machos), sobretudo el tratamiento con una dosis de 50 mg/kg a la edad de 24 días y en menor proporción los peces tratados con una dosis de 30 mg/kg y edad de 18 días, como se aprecia en la figura 29.

La prueba de Tukey indicó que no había diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre el testigo y los peces tratados a los 5 días, pero si con el resto de los tratamientos a los 18 y 24 días ( $P < 0.001$ ), estos últimos tratamientos difieren significativamente ( $P < 0.001$ ) de los machos del testigo, de su respectiva edad. El análisis también indicó que no hubo diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre los peces tratados con las dosis de 30 y 50 mg/kg a los 18 y 24 días, respectivamente.

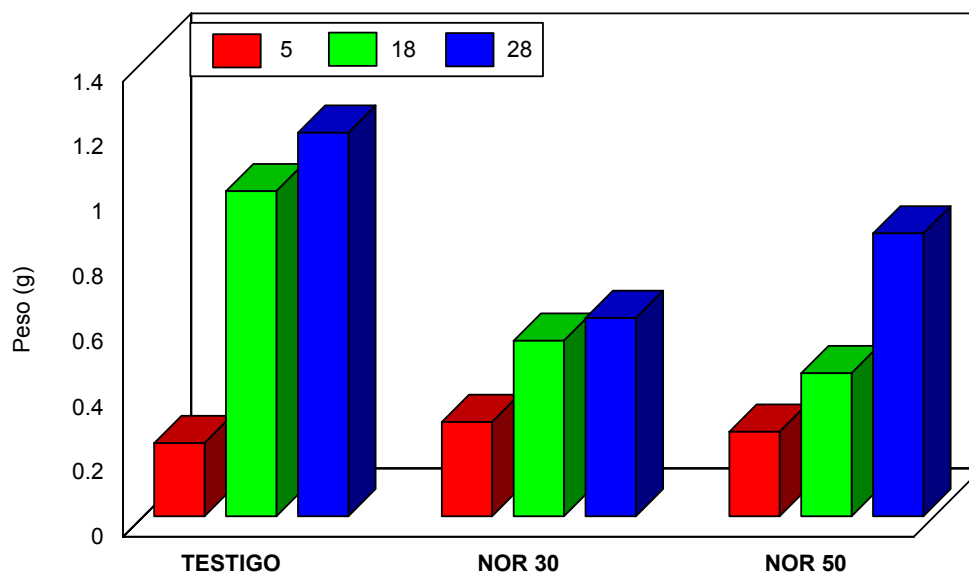


Figura 29. Efecto del esteroide Norgestrel sobre el peso de *X. helleri*, aplicado a tres distintas edades: 5, 18 y 24 días (n = 45).

En la figura 30 se describe la altura de los peces, el mejor tratamiento fue el tratado con 50 mg/kg a la edad de 24 días ( $P < 0.001$ ), quienes difieren significativamente de cualquier tratamiento. Por el contrario, los peces tratados a los 18 días registraron una menor altura que los machos del testigo, principalmente a la dosis de 50 mg/kg. Mientras que los peces tratados a los 5 días registraron una altura ligeramente mayor que el testigo. El análisis indicó que los únicos tratamientos en los que la altura no presentaba diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) fue en la edad de 5 días, entre los machos del testigo y los peces de ambas dosis, al igual que los machos del testigo y la dosis de 30 mg/kg en las edades de 18 y 24 días, respectivamente. Las hembras del testigo a la edad de 18 y 24 días difieren significativamente ( $P < 0.001$ ) de todos los tratamientos.

Con respecto al contraste  $\Psi_1$ , el análisis indicó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en la talla y el peso de los peces tratados con respecto a los machos del testigo. El contraste  $\Psi_2$ , no detectó diferencias ( $P \geq 0.05$ ) en el peso pero si en la talla ( $P < 0.03$ ) de los peces tratados con 30 y 50 mg/kg. Por último, el contraste  $\Psi_3$  determinó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en la talla pero no en el peso ( $P \geq 0.05$ ) de los peces tratados a los 5 días con respecto a los tratados a los 18 y 24 días.



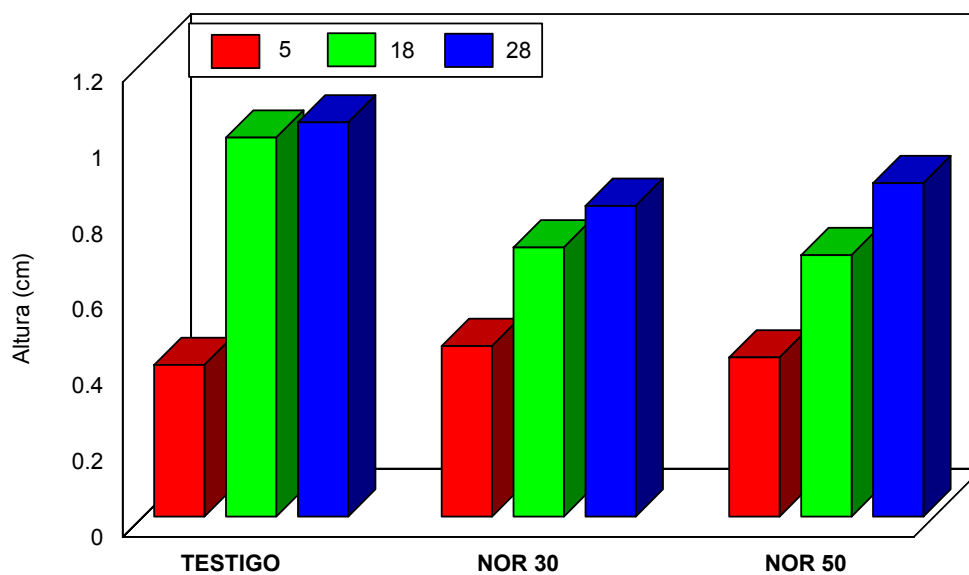


Figura 30. Efecto del esteroide Norgestrel sobre la altura de *X. helleri*, aplicado a tres distintas edades: 5, 18 y 24 días (n = 45).

#### *Peces intersexuales*

Los resultados indicaron que a mayor dosis y edad en que se aplica el norgestrel en los peces, mayor es la proporción de intersexuales, como se aprecia en el tratamiento a la edad de 24 días con dosis de 50 mg/kg, que se describe en la tabla 6. Por el contrario, el tratamiento de 5 días con dosis de 30 mg/kg induce la menor proporción de intersexuales.

Tabla 6. Parámetros morfométricos de los peces intersexuales al finalizar la aplicación del Norgestrel en las edades: 5, 18 y 24 días (promedio  $\pm$  desviación estándar).

Edad (días)	Dosis (mg/kg)	Long. total (cm)	Long. patrón (cm)	Peso (g)	Altura (cm)	Intersexos* % (n)
5	30	5.08 $\pm$ 0.16	3.73 $\pm$ 0.13	0.471 $\pm$ 0.14	0.56 $\pm$ 0.06	4.7 (2)
	50	4.87 $\pm$ 0.46	3.51 $\pm$ 0.28	0.415 $\pm$ 0.19	0.51 $\pm$ 0.07	12.2 (5)
18	30	6.01 $\pm$ 0.24	4.99 $\pm$ 0.19	1.152 $\pm$ 0.22	0.85 $\pm$ 0.18	7.0 (3)
	50	5.74 $\pm$ 0.39	4.67 $\pm$ 0.31	1.041 $\pm$ 0.23	0.77 $\pm$ 0.12	10.0 (3)
24	30	6.10 $\pm$ 0.26	4.95 $\pm$ 0.17	1.178 $\pm$ 0.17	0.98 $\pm$ 0.10	8.9 (4)
	50	5.83 $\pm$ 0.32	4.54 $\pm$ 0.22	1.071 $\pm$ 0.21	0.89 $\pm$ 0.13	20.0 (7)

La información permitió confirmar que los parámetros morfométricos de los intersexuales registraron un mayor incremento que las hembras del testigo para cada una de las edades experimentadas, a excepción de la altura; destacando los peces tratados a los 5 días con 30 mg/kg, que registraron un incremento del 44% en la longitud patrón y 20.2% en el peso, con respecto a su testigo. La respuesta de los intersexuales en los tratamientos de 18 y 24 días es similar en ambas dosis, mientras que el tratamiento a los 5 días tiene una respuesta de la talla y el peso más vigorosa. El análisis de varianza indicó diferencias en la talla de los peces debido a la edad y la dosis utilizada ( $P < 0.001$ ), pero no en la interacción edad - dosis ( $P \geq 0.05$ ). Para el peso el análisis de varianza no determinó diferencia ( $P \geq 0.05$ ) en las tres hipótesis propuestas. Sin embargo, la prueba de Tukey determinó diferencias en la talla y en el peso entre los bloques de los peces de 5 días de edad y los de 18 y 24 días.

#### *Modelos de crecimiento*

El número de machos de los testigos no permitió estimar el modelo que debiera de funcionar como la referencia para estimar el beneficio debido a la edad y dosis del Norgestrel. En su lugar se utilizaron los datos de las hembras, que se describen en la tabla 7.

Tabla 7. Parámetros de los modelos de crecimiento de *X. helleri* debido a la edad y dosis del esteroide Norgestrel.

<b>Tratamiento</b>	<b>Dosis</b> (mg/kg)	<b><math>L^\infty</math></b> (cm)	<b><math>K \pm s_K^*</math></b> (cm/día)	<b><math>T_0</math></b> días	<b><math>r^2</math></b> %	<b>Casos</b> (n)
5	0 (♀)	4.18	$0.16 \pm 0.023$	-0.49	63.0	359
	30	3.59	$0.34 \pm 0.02$	0.31	71.1	387
	50	3.54	$0.27 \pm 0.014$	0.30	77.7	369
18	0 (♀)	5.59	$0.10 \pm 0.003$	-2.37	74.6	291
	30	3.27	$0.26 \pm 0.180$	-3.41	50.2	239
	50	3.15	$0.33 \pm 0.014$	-1.95	67.9	228
24	0 (♀)	4.42	$0.23 \pm 0.110$	-1.25	64.8	283
	30	3.53	$0.28 \pm 0.017$	-2.27	54.5	286
	50	3.77	$0.22 \pm 0.015$	-3.01	54.1	242

\* Desviación estándar del coeficiente de crecimiento

A pesar de que los modelos de crecimiento registraron un coeficiente de determinación ( $r^2$ ) que varió entre el 50.2 y 77.7% se consideran aceptables los modelos estimados, como lo confirma el análisis de la variabilidad descrito por los diagramas de caja para cada uno de los nueve modelos. Los porcentajes de explicación más bajos son los que corresponden a los peces tratados a los 18 días, principalmente con dosis de 50 mg/kg. Por el contrario, los peces tratados a los 5 días generaron los modelos con el mayor porcentaje de explicación y la menor proporción de intersexuales. Los modelos de crecimiento de los peces tratados a los 18 días son contrastantes, ya que la dosis de 50 mg/kg presentó la menor desviación estándar del crecimiento ( $s_k$ ), un mayor porcentaje de explicación y de intersexuales que la dosis de 30 mg/kg. La prueba de covarianza determinó que al menos uno de los coeficientes de crecimiento ( $k$ ) de los nueve tratamientos difiere significativamente ( $P < 0.001$ ) del resto.

Los resultados indicaron que los peces tratados a la edad de 5 días con la dosis de 30 mg/kg registraron la mayor tasa de crecimiento ( $k$ ), así como una de las mayores variabilidades ( $s_k$ ), mientras que la menor  $k$  fue registrada en las hembras de los tres testigos, que fluctuaron entre 0.10 y 0.23 cm/día, sobretodo a la edad de 18 días, pero su crecimiento fue compensado con la mayor longitud máxima ( $L_\infty$ ). Los peces tratados con el NOR a la edad de 24 días con la dosis de 50 mg/kg registraron la tasa de crecimiento más pequeña, por el contrario, esta dosis a la edad de 18 días registró la segunda mejor tasa de crecimiento, pero sus estimaciones son disminuidas al registrar la menor longitud máxima. El número de casos fue superior a los 225 en todos los modelos, siendo el tratamiento a la edad de 5 días con la dosis de 30 mg/kg la que registró el mayor número de casos.

La figura 31, muestra en los dos primeros planos el crecimiento de las hembras del testigo para las edades de 18 y 24 días, se observa que la longitud estimada para cada edad se distribuye dentro de la distancia intercuartil de los diagramas de caja y se encuentra muy cercana a la mediana, a pesar de que el coeficiente de determinación fluctuó entre 63.0 y 74.6%, lo cual indica que los modelos describen en forma adecuada el crecimiento de los peces. El tercer plano compara las curvas de crecimiento de las tres edades, siendo superior la debida a la edad de 24 días. Sin embargo, la prueba de covarianza no determinó diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) con las hembras de 18 días, pero sí con las de 5 días ( $P < 0.03$ ) y entre estas dos últimas no se determinaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ).

La figura 32, muestra el crecimiento de los peces expuestos a la dosis de 30 mg/kg para las edades de 18 y 24 días, donde se destaca en los dos primeros planos que la variabilidad descrita por los diagramas de caja se incrementa, así como el número de casos extremos. Sin embargo, las curvas estimadas por los modelos describen bien el crecimiento de los peces. En el tercer plano se muestra el crecimiento debido a la edad, donde se observa que los peces tratados a los 5 días presentan el mejor crecimiento, al sobrepasar la talla de los peces de la edad de 24 días y sobretodo a los de 18 días. La prueba de covarianza confirmo que el crecimiento de los peces de la edad de 5 días difiere significativamente ( $P < 0.02$ ) del crecimiento de los peces de 18 y 24 días, pero entre las curvas de crecimiento de estos dos últimos no se determinaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ).

La figuras 33, muestra el crecimiento de los peces tratados con la dosis de 50 mg/kg para las edades de 18 y 24 días y se describe en los dos primeros planos, observándose que los peces tratados a los 18 días presentan menor variabilidad que los tratados a los 24 días, al registrarse un mayor tamaño de los diagramas de caja. Sin embargo, las curvas estimadas por los modelos describen bien el crecimiento de los peces. En el tercer plano se muestra el crecimiento de las tres edades, observándose que los peces tratados a los 5 días presentan un mayor crecimiento que los de 18 días, pero no de los tratados a los 24 días. La prueba de covarianza indicó, al igual que cuando se aplicaba el Norgestrel a la dosis de 30 mg/kg, que el crecimiento de los peces de la edad de 5 días difiere ( $P < 0.02$ ) del de los peces de 18 y 24 días, pero entre estos dos últimos no se determinaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ).

La figura 34, recapitula las curvas de crecimiento de las tres edades de los peces tratados con Norgestrel con dosis de 30 y 50 mg/kg, observándose que los peces tratados a la edad de 24 días con dosis de 50 mg/kg presentaron la mayor longitud, en contraste, la mayor tasa de crecimiento la presentaron los peces tratados a los 5 días con dosis de 30 mg/kg y en menor proporción con la dosis de 50 mg/kg. El análisis de covarianza indico que estos dos últimos tratamientos difieren significativamente del resto de los tratamientos ( $P < 0.02$ ), aunque las curvas de crecimiento de los peces tratados a la edad de 5 días difieren significativamente ( $P < 0.001$ ), mientras que los tratados a los 18 y 24 días en ambas dosis no registraron diferencias entre ellos ( $P \geq 0.05$ )

## *Testigo (hembras)*

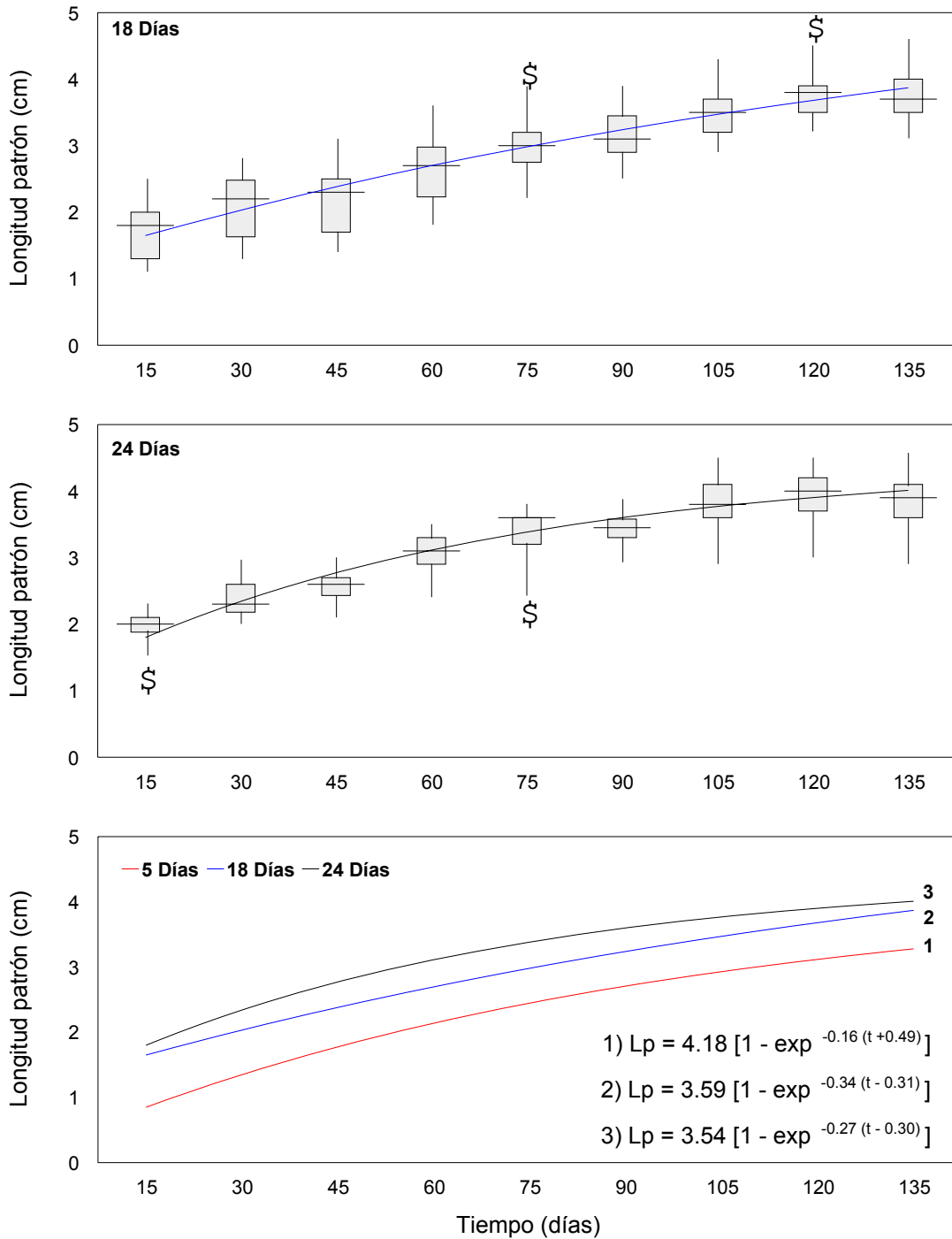


Figura 31. Crecimiento de las hembras de *X. helleri*. Los dos primeros planos describen la longitud estimada por el modelo, la distribución del error y los casos extremos por quincena. El tercer plano describe las curvas de crecimiento y su ecuación por edad.

## Tratamiento: 30 mg/kg alimento

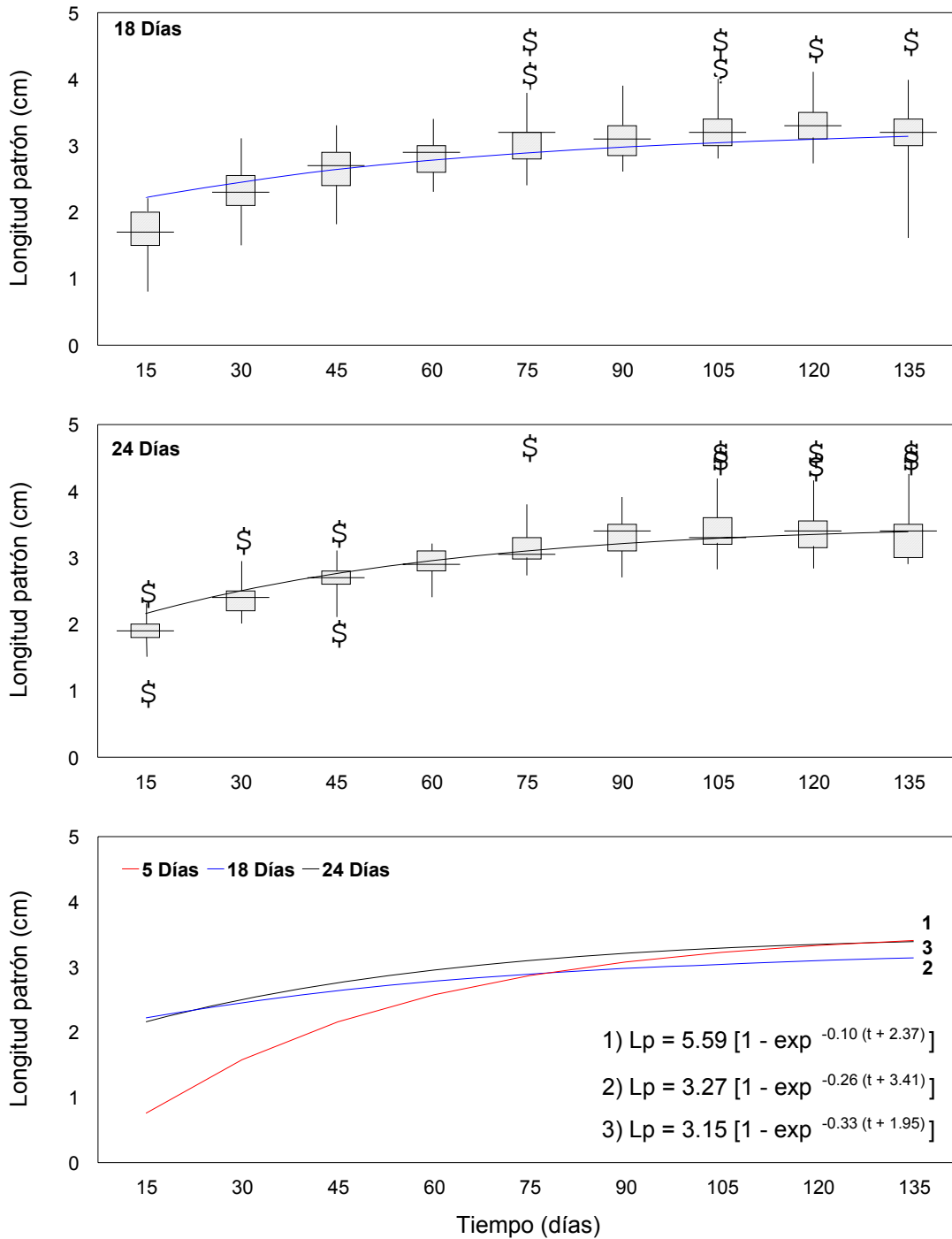


Figura 32. Efecto de la dosis del Norgestrel y la edad de *X. helleri*. Los dos primeros planos describen la longitud estimada por el modelo, la distribución del error y los casos extremos por quincena. El tercer plano compara las curvas de crecimiento por edad y su ecuación.

## Tratamiento: 50 mg/kg alimento

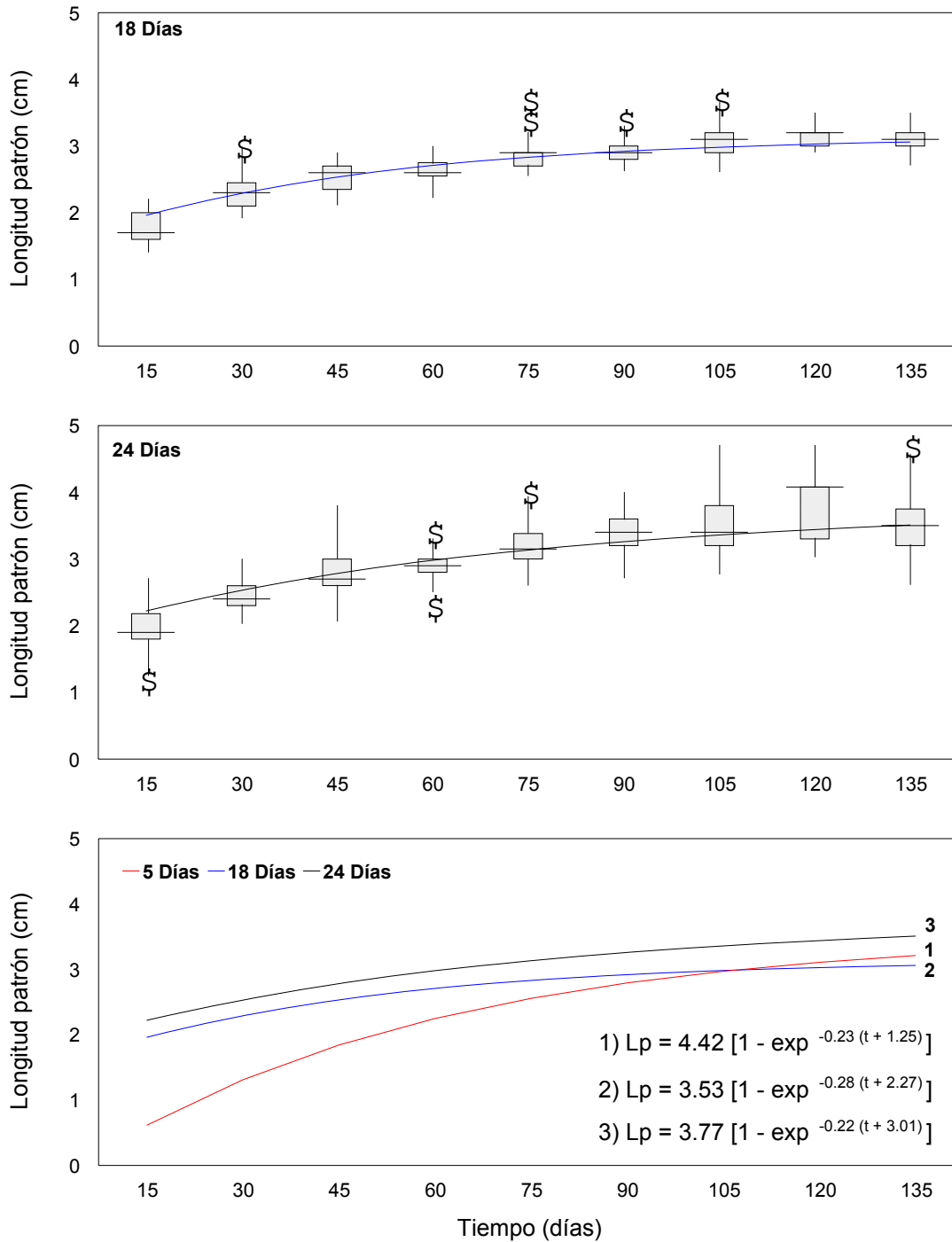


Figura 33. Efecto de la dosis del Norgestrel y la edad de *X. helleri*. Los dos primeros planos describen la longitud estimada por el modelo, la distribución del error y los casos extremos por quincena. El tercer plano compara las curvas de crecimiento y su ecuación.

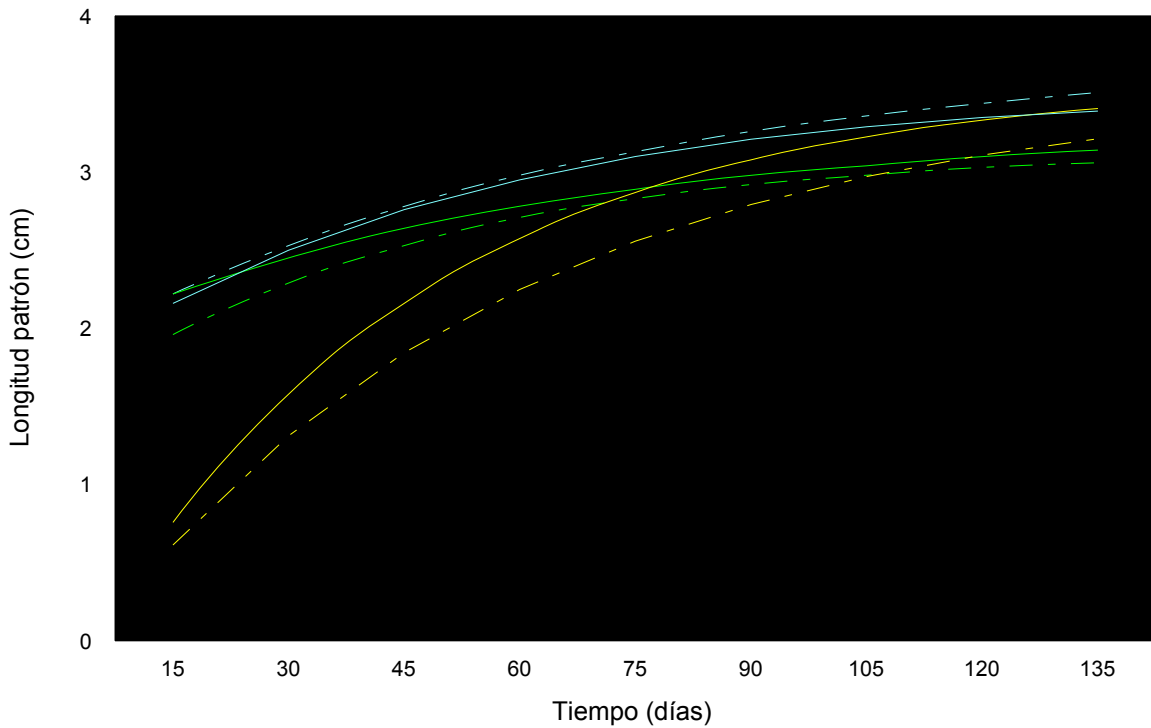


Figura 34. Comparación del crecimiento de *X. helleri* debido a la aplicación del esteroide Norgestrel a dosis de 30 y 50 mg/kg de alimento, aplicado a tres distintas edades: 5, 18 y 24 días.

### *Beneficio económico*

Para estimar el beneficio económico del cultivo de *X. helleri* considerando la edad de aplicación del Norgestrel, se tomo en cuenta el precio estimado para los peces en la segunda fase, que correspondió a \$ 5.43 ± 0.58 para los machos y \$ 1.73 ± 0.38 para las hembras. Los resultados se describen en la figura 35, la información se agrupo en tres bloques, de acuerdo a la concentración del esteroide: 0 (testigo), 30 y 50 mg/kg de alimento, indicado por el valor promedio ± desviación estándar del precio estimado en el mercado.

El análisis indicó que los peces tratados con el Norgestrel a cualquier edad y dosis registran un mayor beneficio económico que el que se obtiene con los peces que no se les aplico el esteroide (testigo), siendo la dosis de 30 mg/kg el bloque que reporta el mayor ingreso, con



un valor estimado entre \$ 200.9 ± 21.5 y \$ 222.6 ± 16.8, para las edades de 24 y 5 días, respectivamente. El bloque de 50 mg/kg registra un beneficio mayor al del testigo pero menor al bloque de 30 mg/kg, ya que se estimó entre \$ 152.0 ± 16.2 y \$ 190.1 ± 20.3, para las edades de 18 y 5 días, respectivamente. Respecto a la mejor edad de aplicación del esteroide, el análisis indicó que fue la de 5 días en ambas dosis, siendo la diferencia entre ellos de \$ 32.50.

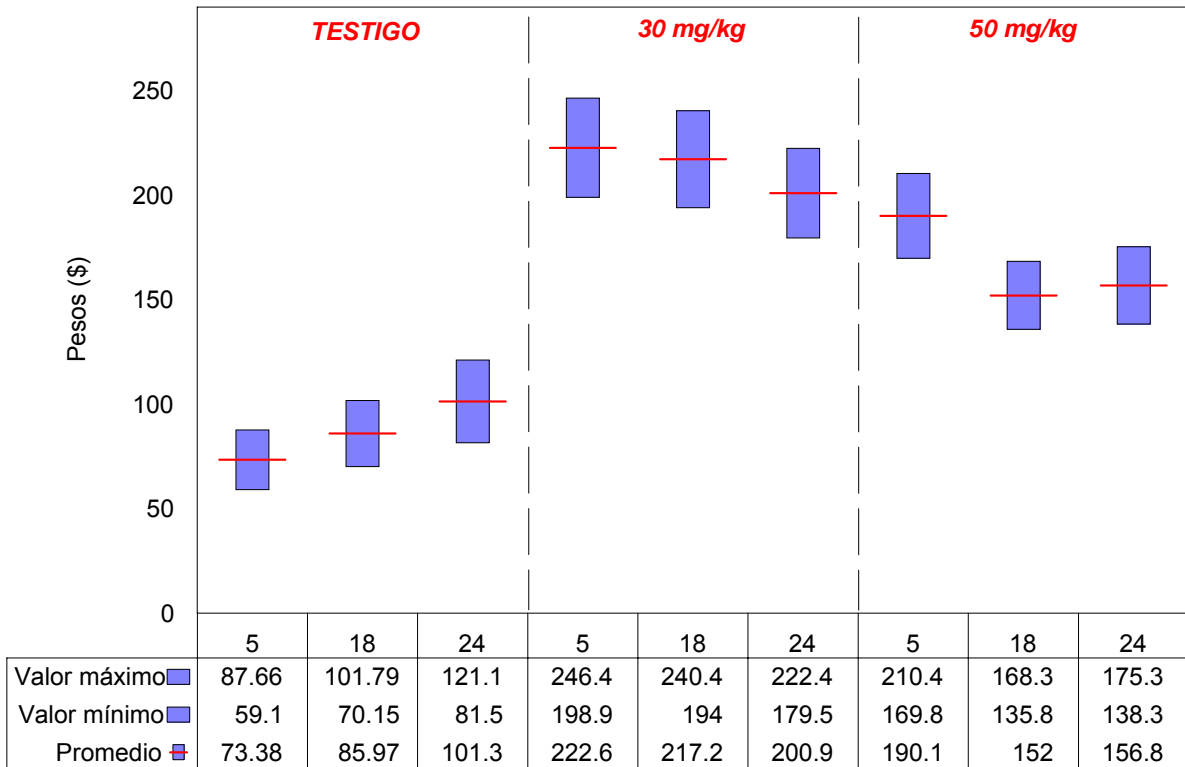


Figura 35. Evaluación comercial de los tratamientos sobre el precio comercial de *X. helleri* en el mercado.

Tomando como referencia la edad que obtuvo el mayor beneficio, que fueron los peces tratados a los 5 días, se estimó para la dosis de 30 mg/kg una ganancia del 303.4% con respecto al beneficio del grupo testigo, mientras que para la dosis de 50 mg/kg se registró un beneficio del 259.1%

## IX. DISCUSIÓN

En el presente documento se enfatiza el propósito de generar un conocimiento comprometido con el proceso productivo del cultivo comercial de *X. helleri*, teniendo como estrategia el implementar tecnologías con base en el uso de esteroides, para la producción de poblaciones monosexuales de machos con un valor agregado.

Con base en lo anterior, la construcción del conocimiento se genera a partir de considerar a una unidad de producción agropecuaria como un “centro de apropiación de la naturaleza” y de esta forma se puede aseverar que una granja acuícola es un ecosistema modificado para la producción, por esta razón, se tiene que analizar la influencia del medio ambiente sobre los atributos poblacionales del organismo de interés sometido a un manejo orientado para la producción. Desde esta perspectiva, la proporción de sexos de *X. helleri* se puede explicar a través del concepto de historias de vida.

Begon *et al.* (1990) describen que una historia de vida es el conjunto de patrones que indican cómo la manifestación de los atributos de una población son una relación de causalidad o un trueque (tradeoffs) energético, así el aumento de uno de los componentes del ciclo de vida está en proporción inversa al decremento de otro, tal es el caso del balance crecimiento y reproducción y este último con relación a la proporción de sexos. Lo anterior, permite comprender cómo la selección natural orienta las características de los ciclos de vida de los organismos que influyen en su comportamiento, la sobrevivencia y por lo tanto en su adecuación al medio.

La riqueza de la historia de vida en *X. helleri* está basada en la variación de los patrones de reproducción, como una respuesta adaptativa a los cambios de las condiciones del ambiente (Snelson, 1993). Según Constanz (1993) entre sus atributos se encuentra que son peces ovovivíparos, ya que los huevos se fertilizan y se incuban dentro del cuerpo de la hembra, cada embrión se nutre de su propio huevo y permanece dentro del cuerpo de la madre hasta el alumbramiento, ya que cuando nacen son capaces de nadar de forma independiente; tienen fertilización interna. En los machos la aleta anal se encuentra modificada como una estructura intromitoria (gonopodio), que aumenta la probabilidad de la fecundación, mientras que la hembra almacena el espermatozoos del macho dentro de su tracto reproductivo por algunos

meses, pudiendo originar varias cohortes sucesivas con una sola inseminación; su proceso de diferenciación sexual es lábil y la proporción de sexos es cambiante, de acuerdo con las condiciones del ambiente.

La historia de vida de *X. helleri* por sí sola constituye un objeto de estudio en el campo de la evolución y en la ecología teórica, sin embargo, el hecho de ser una especie domesticada la convierte en un sujeto de experimentación interesante, ya que su proceso biológico es controlado y orientado para obtener un producto comercial; de esta forma, se reduce la variabilidad genética al limitar el tamaño de la población y al seleccionar un número pequeño de individuos en calidad de reproductores, lo cual contribuye a la consanguinidad de generaciones, que a menudo resultan en la homocigocidad de genes desfavorables, producto de una depresión endogámica, disminuyendo la capacidad adaptativa de la población y alterando en gran medida la proporción de sexos (FAO, 1980; Falconer, 1989; Nakadate *et al.*, 2003).

La predominancia de uno de los sexos es una respuesta adaptativa de la población y puede ser debido a la regulación genética (Spotila *et al.*, 1994). Farr (1981) demostró con distintas razas de *P. reticulata*, un cambio en la proporción de sexos de 1♀:1♂, debido a la acumulación de alelos deletéreos en el cromosoma Y, frecuente en poblaciones donde no existe aporte de información genética nueva y las retrocruzadas son frecuentes, predominando la endogamia, teniendo como resultado bajas proporciones de machos en cada cohorte. Maya y Marañón (2001) coinciden con este planteamiento para la misma especie, al considerar determinante el control de la endogamia para incrementar la proporción de machos en las granjas de producción de peces de ornato en el estado de Morelos, en donde los piscicultores no renuevan sus lotes de reproductores con el cuidado o la celeridad que se requiere, por lo que utilizan organismos de la misma cohorte como parentales o bien emplean machos jóvenes, con características morfológicas vistosas, para aparearlos con sus progenitoras. Esta condición de manejo para la misma especie referida en granjas comerciales en el estado de Morelos lo reporta Velasco (1997), quien obtuvo una proporción de machos hasta del 12%.

## La unidad de producción

El diagnóstico que se realizó sobre la unidad de producción “Avalon” en Atlacomulco, Morelos, tenía como premisa respetar lo más posible el proceso productivo que realizaban los piscicultores, en donde el observador se limitó a evaluar el manejo sin interferir en ninguna decisión. Es probable, que se haya extremado el cuidado de los estanques para mantenerlos en buenas condiciones y libres de posibles depredadores, pero donde se actuó en forma rigurosa fue en el registro de los peces que entraban y eran introducidos a los sistemas de cultivo y los que salían a la venta, así como en la identificación del sexo de los peces sobrevivientes.

Con respecto al manejo de la estanquería, se estima que entre los tres estanques analizados había un volumen de agua estimado entre 24.0 y 27.9 m<sup>3</sup>, es decir, la densidad de siembra se ubicó entre 5.1 y 6 litros por cada pez. De tal manera, que para realizar los cálculos sobre la densidad de siembra en los estanques experimentales se optó por la máxima estimación, que correspondió a 167 peces por m<sup>3</sup> de agua, con el objeto de disminuir el costo de operación por concepto de compra de parentales o, en su defecto de juveniles. Es decir, los estanques podían soportar una mayor carga de peces, pero se prefirió disminuir la precisión de la evaluación en aras de controlar el costo del diseño experimental, sobretodo en la estación de invierno donde el costo se incrementó al disminuir la reproducción y al incrementarse el precio para la adquisición de juveniles.

La densidad de siembra de *X. helleri* que utilizan los piscicultores del estado de Morelos fluctúa entre 4 y 6 litros por pez, siendo la densidad dependiente de la talla que desean comercializar o en algunas ocasiones del número de especies que se cultivan en el mismo estanque. Otra práctica común, es que algunos productores colocan lotes de reproductores en instalaciones denominadas “maternidades” dentro del estanque y cuando consideran que este ya está saturado de crías sacan los reproductores, sin saber la densidad que están manejando. Algunos productores que cultivan peces similares al pez espada, como el platy, cultivado en la granja “Ecopia” (Jojutla), siembran a una densidad de 2.3 litros por pez y se comercializa con tallas de  $2.8 \pm 0.2$  cm de longitud total en un periodo de 60 días.

En otros lugares, las granjas que cultivan al pez espada son sometidas a un manejo intensivo y utilizan otras densidades, como Breeder y Coates (1932) quienes proponen una densidad de siembra de un pez por litro de agua para obtener peces de 3.3 cm de longitud total. Mientras que Tamaru *et al.* (2001) utilizan densidades hasta de 10 peces por litro pero con el inconveniente de tener una sobrevivencia del 35%, mientras que para 2 peces por litro se registra una sobrevivencia del 90%. En general, la capacidad de carga de una unidad de producción es dependiente de los insumos que se le proporciona al cultivo y por la calidad del agua que se utiliza.

### *Calidad del agua*

La evaluación realizada en la unidad de producción, permitió establecer que el cultivo comercial de *X. helleri* mostró un amplio margen de tolerancia a las condiciones físico químicas del agua, siendo un factores limitantes del crecimiento la temperatura y el pH del agua. Al respecto, Acevedo (1974) y Tamaru *et al.* (2001) recomiendan una temperatura que fluctúe entre 22 a 29°C, no obstante, en la época invernal de este estudio se registró una temperatura promedio de 17.7°C, y para el resto de las épocas climáticas una temperatura por arriba de los 23°C. Para el pH se recomienda un valor de  $7.5 \pm 0.5$ , sin embargo, en los estanques se registró un pH alcalino con promedio de  $8.1 \pm 0.9$ , aunque en otoño se estimó un pH promedio de 9.0, lo cual debió limitar el crecimiento de los peces. La concentración de oxígeno disuelto en los estanques fue satisfactorio, ya que el pez referido requiere para crecer al menos de 2.0 mg/l, en los estanques se tuvo promedio de  $7.2 \pm 1.7$  mg/l; siendo el invierno donde se registró el valor más alto y en el verano el más bajo, coincidiendo con la temporada de lluvias.

La distribución de los parámetros físico químicos por los diagramas de caja fueron un procedimiento adecuado, al permitir determinar las tendencias de los parámetros estudiados, ya que se estimaron diferencias de estanque a estanque en el mismo mes de muestreo, incluso algunos cálculos estimados resultaron ser contradictorios. Sin embargo, en los textos especializados los requerimientos son reportados con estos indicadores, por lo que se consideró adecuado registrar la tendencia anual de esta forma, ya que únicamente sirven como una referencia para fines comparativos.

### *Parámetros biológicos*

La sobrevivencia que se estima en las unidades de producción resulta el parámetro más controvertido, ya que al entrevistarse con algunos productores de Morelos, estos tenían una sobreestimación de la sobrevivencia, que se puede explicar por la forma en que ellos obtienen su producción, que es por el sistema de “cosecha continúa”, es decir, extraen una parte de la producción cada determinado tiempo, que son los peces que reúnen las condiciones deseadas por el productor, el resto de los peces los mantienen creciendo hasta que tengan la condición referida, peor aún, es la estimación de la sobrevivencia si desconocen la densidad a la que siembran el estanque.

En estas circunstancias, no es posible afirmar si los resultados obtenidos reflejan si el manejo proporcionado a los estanques experimentales fue adecuado, ya que al no haber un punto de referencia no se puede asegurar nada. Lo que si se puede afirmar es que se extremaron los cuidados de los estanques experimentales. Sin embargo, el dueño de la granja analizada consideró que las sobrevivencias obtenidas eran similares a las que el obtenía, por lo que se sospecha que las sobrevivencias de la granjas son mucho menores a la reportada en el presente trabajo.

En la granja que se analizó se registro una sobrevivencia del 74.1% para el ciclo anual considerado, predominando la presencia de las hembras con el 77.5%, por está razón la proporción de machos fue pequeña, ya que fluctuó entre 8.2 y 37.3%. Es interesante hacer notar, que la temporada comercial más intensa, que es la estación de primavera, resulta también la más favorable para *X. helleri*, ya que las condiciones del medio ambiente promueven el crecimiento, la reproducción y todos aquellos procesos metabólicos dependientes de la benevolencia del ambiente, pero contradictoriamente, fue cuando se registró la menor proporción de machos. En medida que el ambiente se torno más cálido, se registró la mayor proporción de machos, al determinarse en la estación de verano una temperatura promedio de 25°C.

Esta situación, coincide con la tendencia que se ha descrito para *P. reticulata*, con ausencia de endogamia, quien registró el 4.3% de machos a una temperatura entre 20 y 22°C, y se incrementó hasta 34.9% al aumentar la temperatura entre 24 y 26°C (Maya y Marañón,

2001). Sullivan y Schultz (1986) reportan para la molly, *Poecilia sphenops*, un comportamiento similar, donde la proporción de machos se incrementó del 36.7% hasta el 90.3% al aumentar la temperatura desde 24 hasta 30°C. Según Conover (1984), la forma más frecuente para regular el sexo de los peces, es a través del incremento gradual de la temperatura del agua.

Es probable que el pH alcalino del agua, también haya influido en la proporción de machos en la estación de verano, al registrarse un pH promedio de 8.3, ya que coincide con los hallazgos de Maya y Marañón (1998) para *P. reticulata*, quienes mencionan que la proporción de machos, se incrementó en la medida que el pH del agua fue más alcalino, ya que cuando predominaba un pH ácido (entre 6.2 y 6.5) se registró una proporción de 2♀:1♂, cuando el pH era neutro (entre 7 y 7.3) la proporción fue de 1.38♀:1♂ y al ser básico (entre 8.5 y 8.8) se obtuvo la máxima proporción de machos, que fue de 1♀:1.86♂. En contraste, el único registro disponible de la masculinización de *X. helleri* debido al pH es el reporte de Rubin (1985), quien registro una proporción de machos entre 97 y 100% con un pH ácido, cercano a 6.2 y disminuyó a un pH mayor. De cualquier forma, en el verano se registró la mayor proporción de machos y es probable que sea debido al efecto combinado de la temperatura y el pH. Aunque Römer y Beisenherz (1996) reportaron para *P. melonogaster* mayores porcentajes de machos como consecuencia de una temperatura cercana los 29°C, más que debido a un pH ácido (6.2).

Otros autores, como Essenberg (1923) mencionan que la proporción de sexos en *X. helleri* es de aproximadamente 2♀:1♂; mientras que Tamaru *et al.* (2001), reporta para sistemas de estanques proporciones de de 4♀:1♂ hasta 9♀:1♂. En el presente trabajo, se registraron proporciones desde 11.2♀:1♂ en la primavera hasta 1.7♀:1♂ en verano. Las bajas proporciones de machos, observadas en el presente estudio, resultaron estar entre los intervalos reportados por Velasco (1997), quien registró proporciones de hembras del 95% en los Poecílidos: *P. reticulata*, *P. sphenops* y *X. helleri*, en estanques comerciales de granjas productoras de peces de ornato en el estado de Morelos.

## Primer experimento

### *Condiciones experimentales*

La experiencia que se obtuvo a través del diagnóstico de la granja de producción, permitió identificar varios inconvenientes que se tuvieron que solucionar para ajustar el diseño experimental en el laboratorio, considerando que el único factor que se tenía que evaluar en el primer experimento era la respuesta de *X. helleri* de una edad de 5 días sometida al efecto y concentración de cuatro esteroides. Por esta razón, se consideró conveniente obtener juveniles de buena calidad con el fin de minimizar los factores de confusión (Méndez, *et al.*, 1998) debidos a la endogamia (Farr, 1981; Falconer, 1989; Maya y Marañón, 2001; Nakadate *et al.*, 2003) y probablemente al cambio gradual de la temperatura del agua (Conover, 1984; Sullivan y Schultz, 1986).

La facilidad de su manejo y un ciclo de vida corto permitió controlar la reproducción de esta especie en la granja de referencia, de tal forma que para minimizar el efecto de la consanguinidad de generaciones, se traslado a la granja un lote de machos que se mantenía en el laboratorio, el cual se instaló en un estanque previamente preparado para mantenerlos en cuarentena. Posteriormente se indujo la reproducción, al mezclarlos con hembras vírgenes de la granja, siendo el resultado un linaje libre de endogamia. Conforme maduraban las crías fueron separadas por sexos, siendo las hembras el objeto del interés, las cuales a la postre se cruzaron con los machos que fungieron como parentales. Este linaje se mantuvo por espacio de un año, al término se tenían hembras de una calidad y tamaño excepcional, que se constituyeron como el pie de cría en la unidad de producción.

De este linaje, se seleccionaron 30 hembras con un estado grávido similar (evaluado por reconocimiento visual) con el propósito de obtener juveniles de una misma edad, las cuales fueron trasladados al laboratorio, en donde se distribuyeron equitativamente en tres acuarios de 80 litros, manteniendo las condiciones experimentales previamente citadas, cada hembra se colocó en el interior de una “maternidad” hasta la obtención de los juveniles.

Es importante destacar que el diseño experimental minimizo el efecto de la endogamia y además, se controló la influencia de la temperatura del agua, al mantenerla en  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,



desde la instalación y mantenimiento de las hembras maduras, las crías recién eclosionadas, el tratamiento de los juveniles de 5 días hasta la finalización del tiempo de experimentación. La calidad de los sujetos de experimentación, fue excepcional al ser obtenidos de tres hembras, cuyos juveniles nacieron en el transcurso de la noche hasta al amanecer, lo cual significó que tuvieron una diferencia máxima de 12 horas de edad.

#### *Evaluación parcial (60 días)*

Los efectos de la aplicación de los esteroides, como inductores del sexo podrían ser evaluados con precisión si son considerados de manera integral, considerando algunos indicadores, como el inicio de la diferenciación sexual fenotípica, la sobrevivencia, la proporción de sexos, la tasa de crecimiento, y en caso de que su conocimiento sea para ser comparado con otro cultivo comercial, el beneficio económico de la innovación aplicada, ya que es determinante para su viabilidad. Sin embargo, el análisis de las fuentes bibliográficas al respecto es nulo, o esta parcialmente descrito; es probable, que no sea reportada porque tiene implicaciones comerciales, ya que la piscicultura ornamental es una industria exitosa con impacto a nivel mundial (Marañón *et al.*, 1999).

El presente documento cumple con los indicadores antes propuestos, ya que los resultados confirman la eficiencia masculinizante de los cuatro esteroides al registrarse el 100% de machos en cualquiera de las dosis probadas, a excepción del 17 $\alpha$ -MT a dosis de 30 mg/kg, quien registró el 60%. Además, su potencia fue probada como inductores de la diferenciación sexual fenotípica, indicada por el opacamiento característico de la aleta anal al transformarse en gonopodio, ya que en los machos del testigo, se observó la aparición del gonopodio alrededor de los 45 días, mientras que en los peces tratados se advirtió entre los 6 y 11 días, siendo los peces más precoces los inducidos por el Norgestrel y los más lentos para desarrollar dicha característica fueron los tratados con el 19-NAD. Lo anterior, significa que los andrógenos probados aceleraron la aparición de los caracteres sexuales secundarios.

Al respecto, Goodrich *et al.* (1934) y Dildine (1936), reportan el proceso de maduración sexual de *P. reticulata*, indicando que los caracteres femeninos se desarrollan con mayor rapidez, ya que en las etapas inmaduras puede ser observado el desarrollo de las laminillas ovígeras, el engrosamiento del epitelio germinal y el estroma que posteriormente formará

parte del ovario. Mientras que, en los machos se observan indicios de la presencia de testículos. Es decir, la aparición de los caracteres sexuales masculinos aparece con retardo respecto a los caracteres femeninos.

En esta etapa del estudio, ya se apreciaba la tendencia de los tratamientos, como lo confirma la sobrevivencia de los peces tratados con los cuatro esteroides, mostrando que ninguno de los esteroides utilizados fue nocivo para *X. helleri*, ya que los valores estimados fueron superiores a la de los peces del testigo (80%), a excepción de los tratados con el ATB a dosis de 30 mg/kg de alimento, quienes registraron una sobrevivencia del 62.2%. Este último resultado no era esperado, ya que en anteriores ensayos esta dosis había probado ser inocua en los peces, de hecho se esperaba que fuera uno de los mejores tratamientos, por lo que se sospecha que existió algún factor que no se controló y generó dicho resultado.

También, se manifestó el efecto anabólico, ya que los peces tratados con los esteroides tuvieron un mayor crecimiento que los machos del testigo ( $P < 0.003$ ), a excepción del peso de los peces tratados con la dosis de 50 mg/kg de  $17\alpha$ -MT y la altura de los peces tratados con NOR en ambas dosis ( $P \geq 0.05$ ). Como se esperaba los mejores anabólicos, resultaron ser el 19-NAD y el ATB a dosis de 50 mg/kg; la dosis de 30 mg/kg del ATB debe tratarse con reserva al registrar un comportamiento que no era el esperado. Mientras que los peces tratados con el NOR y el 19-NAD promovieron las mayores tallas.

A pesar de que las hembras son más corpulentas que los machos, algunos tratamientos de los peces masculinizados tuvieron un crecimiento similar, como el peso de los peces expuestos con la dosis de 30 mg/kg de 19-NAD y 50 mg/kg de ATB ( $P \geq 0.05$ ), así como la longitud patrón de los peces tratados con la dosis de 30 mg/kg de NOR ( $P \geq 0.05$ ). El resto de los tratamientos de los peces tratados difirieron significativamente del crecimiento de las hembras ( $P < 0.004$ ).

#### *Evaluación definitiva (135 días)*

La finalización de la evaluación correspondió a un ciclo de producción de *X. helleri* en la granja de referencia, que se estimó entre 120 y 135 días, considerando que fue un tiempo

más que suficiente para evaluar el efecto que ocasionaron los esteroides en los peces, después de haber sido alimentados con alimento hormonado durante 60 días, manteniendo las mismas condiciones experimentales durante otros 75 días.

### *Sobrevivencia*

Al finalizar la evaluación se registraron altas sobrevivencias, ya que seis de los ocho tratamientos registraron una sobrevivencia igual o superior al tratamiento testigo, de los cuales sobresalen dos aspectos: primero que el NOR fue el esteroide menos nocivo al registrar la mayor sobrevivencia y dos, que el testigo y todos los tratamientos registraron pérdidas entre el intervalo de los 60 y 135 días, a excepción del ATB, quien registro el mismo número de peces en los mismos intervalos, por lo que se refuerza la hipótesis de que algún factor no controlado causó una mortalidad no esperada en la dosis de 30 mg/kg.

### *Masculinización*

La aplicación de los cuatro esteroides a *X. helleri* fue exitosa, considerando que si no se hubieran aplicado los esteroides a los peces, el 91.4% de la población hubiera sido hembras, como lo mostró el grupo testigo, quien registró el 8.6% de machos. Incluso, el tratamiento de 17 $\alpha$ -MT a dosis de 30 mg que tuvo la menor eficiencia (55.6%) masculinizó a los peces. El resto de los tratamientos, registró una eficiencia masculinizante superior al 91%, siendo los mejores tratamientos: el 19-NAD y NOR, además del ATB con dosis de 30 mg. Sin embargo, el NOR y el 19-NAD generaron peces intersexuales, como se describió en la tabla 3, por lo que si se reconfigura la proporción de machos, resulta que el ATB con dosis de 30 mg es el mejor tratamiento con el 100% de machos, siguiendo en este orden el NOR y el 19-NAD, ambos con dosis de 30 mg/kg, con el 95.3 y el 91.4%, respectivamente.

Las eficiencias masculinizantes en *X. helleri* obtenidas en el presente trabajo, coinciden con las registradas por Nava-Bautista y Rodríguez-Gutiérrez (1995), quienes registraron eficiencias del 100% de machos con 17 $\alpha$ -MT en juveniles de un día de edad y dosis de 35 mg/kg. Al igual que Marañón *et al.* (1999), quienes obtuvieron con dosis similares eficiencias del 100% de machos utilizando el NOR y 19-NAD en juveniles de 5 días de edad.

Pero son superiores a las reportadas por Jessy y Varghese (1987), ya que se obtuvo una mayor eficiencia masculinizante con una menor dosis del esteroide, mientras que estos obtuvieron eficiencias hasta del 91.3% de machos con  $17\alpha$ -MT con dosis de 140 mg/kg; además, coincide con la observación, de que el esteroide utilizado acentuaba el color de los peces tratados, situación que en el presente trabajo se manifestó sobretodo en los peces tratados con el NOR. Lim *et al.* (1992), coincidió en la máxima eficiencia masculinizante, pero se diferenció en que se obtuvieron peces más corpulentos con una menor dosis del esteroide, los resultados difieren en tres aspectos: el primero es la edad en la que aplicó la  $17\alpha$ -MT, que fue en juveniles de tres semanas de edad, el segundo en la estrategia de aplicación del esteroide, ya que utilizaron tratamientos de corta duración de 10 días pero con altas concentraciones de 500 y 750 mg/kg y el tercero, es que las altas concentraciones del esteroide inhibió el crecimiento al obtener peces masculinizados pero enanos. Márquez (1999), obtuvo una mayor eficiencia masculinizante, ya que reporta en sus tratamientos hasta el 85.7%, pero difiere en la forma que se administró el esteroide, al aplicarlo sobre hembras grávidas, con dosis de 5.0, 7.5, 10.0, y 12.5 mg/l, induciendo la masculinización de las crías.

Por otra parte, se consideró que *P. reticulata* es la referencia obligada para analizar el empleo de esteroides con propiedades androgénicas en los Poecílidos, como lo reportan: Dzwillo (1962, 1966), citado por George y Pandian (1995), quien trató juveniles de 8 días de edad y logró el 100% de masculinización por inmersión durante 24 horas en agua que contenía 3 mg/l de  $17\alpha$ -MT; Clemens *et al.*, (1966) utilizaron el mismo esteroide en forma oral a una concentración de 20 a 30 mg/kg de alimento durante 60 días en crías recién nacidas, obteniendo una proporción de 90% de machos; Takahashi (1974) también administró en la dieta de crías recién nacidas diferentes dosis de  $17\alpha$ -MT, de 15 a 300 mg/kg y 11-ketotestosterona, de 50 a 200 mg/kg, en diferentes intervalos con una eficiencia de masculinización poco clara; Takahashi (1975) igualmente obtuvo el 100% de masculinización por inmersión de hembras homogaméticas, tratados durante 35 días con 11-ketotestosterona a una concentración de 25 y 50  $\mu$ g/l; Kavumpurath y Pandian (1993) obtuvieron el 100% de masculinización en crías tratando a hembras grávidas con 19-NAD a 200 mg/kg de alimento en un periodo de 5 a 10 días previos al parto; Pandian (1993) reportó la masculinización de juveniles utilizando  $17\alpha$ -MT a una concentración de 400

mg/kg de alimento en hembras grávidas de entre 7 y 8 días después del parto; Azpeitia (1997) obtuvo el 100% de masculinización utilizando 300 mg de ATB en juveniles de 30 días, durante 60 días; Maya (2007) utilizó el mismo esteroide a una concentración de 100 y 200 mg/kg de alimento en crías de un día de edad, durante 60 días, obteniendo una proporción hasta del 95% de machos.

Otro Poecílido que permite contrastar sus resultados con el presente reporte, es el registrado por Sánchez (1994), quien utilizó un diseño experimental similar al presente en *Poecilia velifera*, utilizando los mismos esteroides, la misma edad y los mismos indicadores de eficiencia; difiriendo únicamente en las dosis utilizadas, que fueron de 200 y 300 mg/kg. Concluyendo que el mejor tratamiento fue el NOR con dosis de 300 mg/kg al registrar el 75% de machos, mientras que el testigo registró el 24.1%; la sobrevivencia de los peces tratados fue entre 86.7 y 100%, en tanto que el testigo registró el 96.7%; el mayor crecimiento en talla, aleta caudal, altura y peso se registró con los peces tratados con el 19-NAD. En el presente documento se coincide en que el NOR es el mejor inductor para masculinizar y el 19-NAD es el mejor anabólico.

Por lo anterior, se interpreta que la eficiencia masculinizante para los Poecílidos fluctúa entre el 75 y 100%, dependiendo de la proporción de sexos de la especie, del esteroide, del vehículo de administración, la dosis, la duración del tratamiento y la edad del organismo a la que es tratado.

### *Crecimiento*

Como se esperaba, el efecto anabólico de los esteroides utilizados se manifestó en los peces masculinizados, al desarrollarse una mayor corpulencia que ocasionó diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) en el peso, talla y altura en los peces tratados con respecto a los machos que no se les administró esteroide. Incluso, la mayor parte de los tratamientos fueron tan eficientes que los peces registraron tallas y pesos similares o superiores al de las hembras del testigo.

Al finalizar la evaluación se ratificó que el mejor promotor del peso fue el 19-NAD y en menor proporción el ATB con dosis de 50 mg/kg, difiriendo ( $P < 0.03$ ) del resto de los tratamientos.

En tanto que, el peso de los peces tratados con  $17\alpha$ -MT fue similar ( $P \geq 0.05$ ) al de las hembras del testigo. Los peces tratados con NOR fueron los que presentaron los pesos más bajos. En general, los peces sometidos a dosis de 30 mg/kg indujeron organismos más corpulentos que los sujetos con dosis de 50 mg/kg, a excepción de los tratados con ATB, el cual debe tomarse con cautela por presentarse algunas situaciones que no se esperaban.

Con respecto a la talla, los mejores promotores del crecimiento fueron el NOR y el 19-NAD, sobretodo las concentraciones de 30 mg/kg, difiriendo ( $P < 0.04$ ) con el resto de los tratamientos. Mientras que los peces tratados con  $17\alpha$ -MT presentaron las tallas más pequeñas, pero no se determinaron argumentos para probar que existían diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) con los peces tratados con el ATB ni con las hembras del testigo.

En el presente estudio, la aplicación de los esteroides en *X. helleri* fue exitosa, considerando que no causó daño a los peces tratados y funcionó como un eficiente agente anabólico y, como sugieren Mommsen y Moon (2001); aumentó la eficiencia para incrementar la tasa de deposición de músculo en el pez, al mejorar la eficiencia de la conversión alimenticia, ya que los peces tratados tuvieron una ganancia de biomasa al finalizar la evaluación del 21.8% en NOR, 70.2% en  $17\alpha$ -MT, 83.3% en ATB y 114.2% en 19-NAD; con respecto a los machos que no se les aplicó el esteroide. Es decir, los peces incrementaron su biomasa y en algunos casos, como en el 19-NAD duplicaron su peso por la inducción del anabólico.

#### *Modelos de crecimiento*

La precisión de los modelos de crecimiento se evaluaron con dos indicadores: el análisis gráfico de la distribución por tiempo a través de los diagramas de caja y el análisis numérico por el coeficiente de determinación, que muestra la precisión del modelo en función del error.

Es importante mencionar, que una ventaja que se obtuvo en el presente diseño experimental fue debido a las altas sobrevivencias registradas en los tratamientos que repercutieron sobre el tamaño de la muestra, ya que el tratamiento con la menor sobrevivencia tuvo 206 casos, pero la mayor parte fue estimada en muestras superiores a 305 casos. Otro factor considerado fue que casi todos los datos se estimaron de sujetos de experimentación

masculinizados, situación que se reflejó en la variabilidad, y que debió repercutir en los bajos coeficientes de determinación, que fluctuaron entre el 57.1 y 78.2%. Sin embargo, el análisis gráfico de los resultados muestra que todos los modelos describen en forma adecuada el crecimiento de los peces, ya que las longitudes estimadas para cada tratamiento se localizan dentro de la distancia intercuartil de los diagramas de caja e incluso interceptan la mayor parte de las medianas para cada tiempo.

Con base en lo anterior, los resultados indicaron que la dosis de 50 mg/kg de ATB y 19-NAD promueve un mayor crecimiento en los peces que los tratados con 30 mg/kg, mientras que el 17 $\alpha$ -MT registró un crecimiento equilibrado entre ambos tratamientos y no se determinaron argumentos estadísticos para afirmar que los peces expuestos con las dosis de 30 y 50 mg/kg tenían un crecimiento distinto ( $P \geq 0.05$ ). Por el contrario, los peces expuestos al NOR fueron los únicos modelos en que se determinaron diferencias ( $P < 0.002$ ) entre las curvas de crecimiento debido a la dosis, ya que la concentración de 30 mg/kg indujo en los peces un mayor crecimiento, la mayor distancia intercuartil y el mayor número de casos extremos, además registró la segunda mayor variabilidad ( $S_k = 0.20$ ), solamente después de la estimación para el 19-NAD con la misma dosis. En los modelos de estos dos últimos esteroides, la presencia de peces intersexuales se manifestó al incrementarse la variabilidad, no obstante, los modelos describen en forma adecuada el crecimiento de los peces en ambas dosis.

El análisis de covarianza realizado sobre los coeficiente de crecimiento indicó una respuesta diferencial en los modelos ( $P < 0.001$ ) debido al uso de los esteroides, como se observó en la figura 23, en donde se corrobora que el mayor crecimiento de los peces de todos los tratamientos fue debido al NOR a dosis de 30 mg/kg, quien además difiere del crecimiento del resto de los tratamientos ( $P < 0.001$ ). Las dosis del 19-NAD y las del NOR con 50 mg/kg exhiben un crecimiento similar ( $P \geq 0.05$ ), pero difieren de las curvas de crecimiento con ATB y 17 $\alpha$ -MT ( $P < 0.003$ ).

De acuerdo con el coeficiente de crecimiento y su desviación ( $K \pm S_k$ ) se considera que la longitud máxima ( $L_\infty$ ) para los peces tratados con el NOR con dosis de 30 mg/kg se alcanzaría entre los 300 y 315 días, mientras que para la dosis de 50 mg/kg se alcanzaría

entre los 375 y 390 días: Lo cual difiere de los tratamientos de los peces del 19-NAD, quienes requerirían de entre 390 y 420 o 435 y 465 días, respectivamente para cada dosis.

De lo anterior, se deduce que los modelos de crecimiento obtenidos para *X. helleri*, describen en forma adecuada el efecto anabólico de los esteroides probados. Sin embargo, no existe ningún documento que presente un análisis similar que permita contrastar el alcance de la aplicación de estos agentes químicos, aún cuando en las granjas de producción de peces la administración oral de hormonas es común, como lo describen Pelissero y Sumpter (1992). Por esta razón, es necesario profundizar en el modo de acción del anabólico para deducir la posible estrategia para su aplicación a mayor escala.

### **Peces intersexuales**

El efecto residual del NOR y del 19-NAD, se reflejó en los cambios de las características sexuales secundarias, ya que la masculinización obtenida a los 60 días no fue permanente, indicando que el intervalo de acción de estos esteroides es corto, y en el momento que se dejó de administrar una parte de los organismos masculinizados manifestaron características femeninas, lo cual indica que estos peces siguieron produciendo estrógenos.

En particular, los tratamientos con 19-NAD tuvieron el inconveniente de registrar la mayor proporción de peces intersexuales, entre el 8.6 y 20.6%, para las dosis de 30 y 50 mg/kg, respectivamente, lo cual sugiere dos situaciones; la primera, es que el incremento de la masa muscular fue en detrimento del desarrollo de las gónadas, ya que de no haberse aplicado el esteroide a los peces, más del 90% habrían sido hembras, con la consecuente esterilización de estas, de esa forma los peces invirtieron energía únicamente en el crecimiento y no en la maduración de las gónadas, como sugieren Manzoor y Satyanarayana (1989) y la segunda, es que posiblemente los trastornos ocasionados a nivel del gonopodio y presumiblemente de las gónadas, demuestren de acuerdo con Takahashi (1974), la dependencia de los caracteres sexuales secundarios con respecto al tipo y dosis del esteroide administrado.

Los resultados mostraron que los peces intersexuales, crecieron más que los machos inducidos por los esteroides y las hembras del grupo testigo, como se aprecia al contrastar



los parámetros morfométricos citados en las tablas 2 y 3. En particular el tratamiento que corresponde al 19-NAD con dosis de 50 mg/kg, registro la mayor proporción de intersexuales con 4.7♂:1♀, mientras que en dosis de 30 mg/kg registro una proporción de 13♂:1♀. Por el contrario, el tratamiento con NOR y dosis de 30 mg registró la menor proporción, con 21.5♂:1♀, mientras que para dosis de 50 mg registro 8♂:1♀.

El análisis realizado sobre los parámetros morfométricos confirmó un crecimiento diferencial ( $p \leq 0.04$ ) entre los machos y los peces intersexuales para dosis de 50 mg/kg con ambos esteroides, mientras que con dosis de 30 mg/kg para los mismos esteroides no se detectó ninguna diferencia ( $P \geq 0.05$ ). En estos dos últimos tratamientos los intersexuales son más corpulentos que los machos, pero el análisis no determinó la diferencia debido a la variabilidad de los parámetros estimados y sobretodo porque el tamaño de la muestra fue pequeño.

Por otro lado, considerando que el testigo registró el 91.4% de hembras, parece factible que los peces intersexuales fueron hembras y sus caracteres sexuales secundarios fueron masculinizados, como afirma Takahashi (1975), quien realizó el análisis histológico de las gónadas de peces intersexuales de *P. reticulata* tratados con 17 $\alpha$ -MT, determinando que las estructuras identificadas proceden de gónadas femeninas, atrofiadas en distinto grado, mientras que el análisis de las gónadas de los machos tratados indicó que estos organismos eran estériles, debido a las alteraciones de los testículos y al arreglo irregular de los conductos espermáticos.

Nakamura (1975) coincide con Takahashi (1975), al aportar elementos que afirman que en los peces intersexuales no se lleva a cabo una reversión sexual completa de la gónada e incluso ésta no llega a desarrollarse, presentando simultáneamente una porción de tejido ovárico y otra de tejido testicular simultáneamente, por lo que sus caracteres sexuales secundarios tampoco están bien definidos, ya que algunos organismos poseían características de ambos sexos.

En el presente trabajo, se observó un indicador relacionado con la conducta reproductiva de *X. helleri*, ya que al finalizar la evaluación los organismos estaban sexualmente maduros,

pero el comportamiento de algunos peces intersexuales correspondió al de una hembra, más aún, los machos masculinizados cortejaron a los intersexuales como si fueran hembras, por lo que se refuerza la hipótesis de que los peces intersexuales eran machos únicamente en sus características sexuales secundarias.

Según Takahashi (1975), la diferenciación sexual de *P. reticulata* se realiza durante el desarrollo embrionario dentro de la madre, antes de que las crías eclosionen, siendo factible que *X. helleri* tenga este patrón, lo cual significaría que los peces de cinco días de edad utilizados en el presente trabajo ya tenían una sexualidad definida al momento de ser tratados.

La diferenciación sexual es el resultado de un conjunto de eventos, cuyo inicio es el establecimiento genético del sexo, posteriormente y una vez diferenciadas las gónadas completamente, éstas controlan los caracteres sexuales secundarios, debido a la secreción de hormonas sexuales. Ante la presencia de hormonas masculinas secretadas por los testículos, el efecto de las hormonas femeninas se ve inhibido y entonces se promueve el desarrollo masculino (Devlin y Nagahama, 2002).

La diferenciación sexual de *X. helleri* es muy versátil, ya que las variedades que actualmente se encuentran en el mercado provienen del intercambio genético entre esta especie y *X. maculatus* (platy), el resultado ha sido la obtención de híbridos fértiles con una mayor cantidad de patrones de color y diversidad de formas de la aleta dorsal y caudal (Tamaru *et al.*, 2001). De acuerdo a lo anterior, es probable que la variedad utilizada en el presente trabajo proceda de dicha cruce y presente un patrón de sexualidad lábil, como menciona Lodi (1979), quien describe dos situaciones:

1. El resultado de la domesticación de este híbrido incremento la variabilidad sexual y tuvo como consecuencia la generación de hembras gonocorísticas y una proporción de hermafroditas protoginias, que en el futuro se constituyen en machos funcionales; pero también presenta hembras arrenoides que adquieren las características sexuales masculinas, pero no son capaces de inseminar a otras hembras.
2. Describe dos tipos de machos, jóvenes de talla pequeña (dos meses de edad) que

presentan los caracteres sexuales secundarios y otro tipo de macho, que parece una hembra pero dichos caracteres aparecen hasta los doce meses y son funcionales.

Con base a lo anterior, es posible que este híbrido domesticado presente una tendencia a regresar a las formas y estrategias de las poblaciones silvestres, siendo factible que la proporción de sexos que se estimó en la granja de referencia sea parte de esta manifestación adaptativa.

Es indudable que para complementar la información generada en el presente trabajo, se requiere de tres acciones: 1). Confirmar el efecto masculinizante de los esteroides utilizados sobre las gónadas de los peces tratados de *X. helleri*, a través de análisis histológicos, incluso, se requiere profundizar en el análisis de los peces intersexuales ya que no tienen un patrón bien definido, como menciona Takahashi (1975), más bien, estos peces presentan distinto grado de intersexualidad; 2). Analizar la estructura del gonopodio a nivel microscópico, ya que al madurar sexualmente el macho la aleta anal, empieza a plegarse hasta formar el tubo capilar u órgano copulador, que en el caso de los intersexuales el plegamiento es diferencial y 3). Se requiere repetir el mismo diseño experimental, con los mismos esteroides y dosis propuestas, pero en poblaciones silvestres de *X. helleri*, para evitar el sesgo ocasionado por la hibridación de especies, como describe Lodi (1979). La magnitud de esta tarea requiere de un análisis más completo y debe ser objeto de un trabajo de mayor profundidad.

#### *Beneficio económico*

A pesar de que el diagnóstico realizado es muy simple, el análisis que se realizó es de gran utilidad ya que considero los siguientes aspectos:

- a). Los lugares donde se realizaron las entrevistas para estimar el precio de *X. helleri* en los mercados “Nuevo San Lázaro” y “Emilio Carranza”, fueron seleccionados por la magnitud de transferencias mercantiles que se realizan en el Distrito Federal y por el giro comercial que desarrollan, ya que se han convertido en los principales centros de distribución nacional para la venta de peces de ornato, estos mercados agrupan entre

115 y 120 puestos, la mayoría de los peces que se venden son nacionales y son surtidos principalmente por las granjas productoras de Morelos.

- b). El número de entrevistas para estimar el precio fue pequeño ( $n = 20$ ), por las características que debía tener cada una de las muestras. Sin embargo, fue suficiente para determinar un punto de referencia que permitiera estimar el beneficio económico debido a la aplicación de los esteroides probados.
- c). La consideración de que los peces intersexuales fueron clasificados como machos en la proyección económica que se estimó, no alteró significativamente las estimaciones que se realizaron, sobretodo en los cálculos de los tratamientos de 30 mg/kg de NOR y 19-NAD, que registraron 2 y 3 casos, respectivamente.
- d). La utilización de un modelo sencillo que permitió estimar el beneficio económico en forma expedita, al ser calculada a partir de la suma de los productos parciales del precio estimado de los peces sobrevivientes, para cada uno de los sexos.

El análisis de mercado indicó un valor diferencial en el precio de *X. helleri*, al estimarse un importe por pareja de \$ 7.16, de los cuales \$  $5.43 \pm 0.58$  correspondieron al macho, equivalente al 75.8% del precio total de una pareja. Sin embargo, en el mercado internacional, el macho alcanza un precio entre \$15.00 y \$20.00, mientras que, si se adquiere por pareja, se cotiza entre \$25.00 y \$28.00 (Aguirre, 1999), lo cual indica que el precio por pareja es de \$26.50, de los cuales \$  $17.50 \pm 2.50$  corresponden al macho y \$  $9.00 \pm 1.50$  a la hembra. De lo anterior, se puede interpretar que el precio del macho en el mercado internacional representa entre 53.6 y el 80% del costo total, coincidiendo el porcentaje más alto con el estimado en la presente evaluación, mientras que el precio estimado para el mercado nacional representa entre el 22 y 32%, con respecto al del mercado internacional.

Tomando como referencia el precio internacional de *X. helleri* por sexo, se aplicó el mismo modelo para estimar el beneficio económico, con el objeto de contrastarlo con el que ya se había estimado para el mercado nacional, el cual se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Eficiencia de los esteroides analizados en *X. helleri*

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Precio			
		Nacional (\$ y %*)		Internacional (\$ y %*)	
Testigo	0	73.3 ± 14.3	(---)	349.4 ± 57.0	(---)
Acetato de Trembolona	30	152.0 ± 16.2	(107.3)	490.0 ± 70.0	(40.2)
	50	198.8 ± 21.8	(171.1)	651.0 ± 93.6	(86.3)
17 $\alpha$ -Metiltestosterona	30	136.3 ± 17.7	(85.9)	494.1 ± 74.0	(41.4)
	50	179.0 ± 19.7	(144.0)	587.1 ± 84.5	(68.0)
Norgestrel	30	233.6 ± 25.0	(218.5)	752.9 ± 107.6	(115.5)
	50	222.6 ± 23.8	(203.5)	717.4 ± 102.5	(105.3)
19- Norandrostendiona	30	190.1 ± 20.3	(159.2)	612.5 ± 87.5	(75.3)
	50	184.6 ± 19.7	(151.7)	595.0 ± 85.0	(70.3)

\* Tomando como referencia el beneficio estimado para el testigo

La diferencia entre ambos mercados se centra en el precio, la calidad y que el nacional privilegia los tratamientos con mayor porcentaje de machos, al cotizarse a un mayor precio que las hembras. En general, el análisis indicó que todos los tratamientos con los esteroides tuvieron un mayor beneficio económico, que el registrado para el testigo en los dos mercados, siendo la referencia en el nacional de \$73.3 ± 14.3 y en el internacional de 349.4 ± 57.0.

Lo interesante es, que sin importar el origen del pez la tendencia se conserva, esto es que el mayor ingreso económico se encuentra en el bloque de los peces tratados con NOR, quienes reportaron un beneficio superior al 203 y 105%, dependiendo del origen del pez. Por el contrario, las dosis de 30 mg/kg de 17 $\alpha$ -MT y ATB muestran el menor beneficio, con 85.9% en el mercado nacional y 40.2% en el internacional. El bloque de los peces tratados con 19-NAD reportan el segundo mejor tratamiento en el mercado internacional, con un beneficio superior al 70.0%; mientras que en el nacional es el ATB a dosis de 50 mg/kg, con el 171%.

### Recapitulación

Aunado al análisis económico, se complementó la información de los indicadores propuestos de eficiencia en la tabla 9, con el objeto de seleccionar el mejor tratamiento en base a una ponderación objetiva de dichos estimadores, donde se observa que el Norgestrel fue el mejor tratamiento, al obtener el mayor porcentaje en precio, sobrevivencia, masculinización y talla; siendo deficiente únicamente en el peso, pero se puede asegurar que a cambio promovió que los peces fueran más estéticos al generar formas más hidrodinámicas, con una coloración más intensa. Una segunda opción es el Acetato de Trembolona a dosis de 50 mg/kg, ya que fue un eficiente agente masculinizante, registro una sobrevivencia similar al grupo testigo y un buen crecimiento en talla y peso y a diferencia de los peces tratados con el 19-Norandrostendiona no presento intersexuales.

Tabla 9. Eficiencia de los esteroides analizados en *X. helleri*.

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Sobrevivencia %	Masculinización %	Talla * %	Peso * %
Testigo	0	77.8	8.3	--	--
Acetato de trembolona	30	62.2	100.0	31.0	77.3
	50	86.7	91.4	34.5	89.3
17 $\alpha$ -Metilttestosterona	30	80.0	55.6	34.5	76.9
	50	77.8	91.4	32.0	63.6
Norgestrel	30	95.6	100.0	70.0	27.6
	50	91.1	100.0	51.7	16.0
19-Norandrostendiona	30	77.8	100.0	46.8	128.9
	50	75.6	100.0	54.2	99.6

\* Estimadores del crecimiento, el mejor estimador de la talla es la longitud patrón

Los esteroides Acetato de Trembolona y el 19-Norandrostendiona probaron ser excelentes anabólicos, mientras que el Norgestrel funcionó como un eficiente agente masculinizante. Es probable, que la combinación de esteroides pueda orientar la mejor estrategia para inducir el

sexo y tipo de pez que se desea, como sucede en la industria pecuaria, en donde se promueve la combinación de un andrógeno con un estrógeno para promover el máximo crecimiento, como se describe en la tabla 10, ya que un escenario deseable para el cultivo de *X. helleri* sería incrementar el número de machos con la corpulencia de las hembras.

Tabla 10. Anabólicos comerciales utilizados en la industria pecuaria.

<b>Esteroides</b>	<b>Nombre comercial</b>	<b>Presentación comercial</b>	<b>Animales en que es aplicado</b>
Zeranol <sup>1,2,3</sup>	Ralgro®	Implante	Novillo, cordero, buey y borrego
Acetato de Trembolona <sup>1,2,3</sup>	Finaplix®	Implante	Novillo, vaca y buey y gallina
Acetato de Trembolona + 17-β Oestradiol <sup>1,3</sup>	Revalor®	Implante	Toro, oveja, cabra, buey y cerdo
17-β Benzonato de Oestradiol + Propionato de Testosterona <sup>1,2,</sup>	Implix BF®	Implante	Buey, novillo, ternero y cabra
17-β Benzonato de Oestradiol+ Propionato de Progesterona <sup>1,2,3</sup>	Implix BM®	Implante	Buey, novillo, gallina, pato y pavo
17-β Benzonato de Oestradiol+ Propionato de Testosterona <sup>1,2,3</sup>	Synovex H®	Implante	Buey, novillo, terneros, cabra, cerdo y gallina
17-β Benzonato de Oestradiol+ Propionato de Progesterona <sup>1,2,3</sup>	Synovex S®	Implante	Buey, novillo y cerdo
Acetato de Trembolona + Zeranol <sup>1,2,3</sup>	Tolerol®	Implante	Novillo, ternero, cordero, buey, borrego y gallina

<sup>1</sup> Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive Fifty-second Meeting Rome, 2-11 February 1999. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. 24 pp.

<sup>2</sup> Fédération des producteurs de bovins du Québec. 2004. Les anabolisants dans la production du veau. 31 pp.

<sup>3</sup> Animal productions and health. Paper.1981. Hormones in animal production. FAO 31.s/p.

## Segundo experimento

Seleccionado el esteroide Norgestrel como el más eficiente compuesto para agregar valor al cultivo comercial de *X. helleri*, se procedió a evaluar la edad más adecuada para aplicar el tratamiento en las edades de 5, 18 y 24 días.

### *Sobrevivencia*

Como se esperaba, los resultados confirmaron la eficacia del NOR al actuar en forma poco agresiva sobre los peces, incluso las sobrevivencias registradas con las dosis de 30 mg/kg resultaron ser mejores que la de los peces que nos se les aplico el esteroide, en las tres edades analizadas. En general, se observó una tendencia que indica que a mayor edad de los peces es mayor la probabilidad de sobrevivir, a excepción de la edad de 5 días con dosis de 50 mg/kg, la cual no se ajustó a esta relación, al registrar una sobrevivencia mayor del 90%.

### *Masculinización*

Se confirmó que *X. helleri* es un excelente sujeto de experimentación para analizar el efecto masculinizante del NOR, ya que los resultados muestran que sin importar la edad o dosis se obtuvo una eficiencia que fluctúa entre el 75 y 90%, mientras que los tratamientos donde no se aplicó el NOR, registraron entre el 8 y 12% de machos. La dosis más eficiente fue la de 30 mg/kg en las edades de 5 y 18 días, al inducir porcentajes de masculinización superiores al 94%; por el contrario, la edad de 24 días registró los menores porcentajes de machos.

Un aspecto que debe rescatarse en el diseño experimental desarrollado en el laboratorio es la consistencia de la proporción de los sexos en los tres grupos testigos, ya que el porcentaje de hembras para las edades de 5, 18 y 24 días fluctuaron entre el 87.2 y 91.4%, que coincide con las proporciones registradas en la granja de referencia que se analizó y con las proporciones de hembras reportados por Velasco (1997), quien registró hasta el 95% de hembras en *P. reticulata*, *P. sphenops* y *X. helleri* en estanques comerciales de granjas productoras de peces de ornato en el estado de Morelos.



Por otro lado, al finalizar la evaluación se manifestó la presencia de peces intersexuales, faltando por determinar la asociación que existía entre la edad del pez tratado y la concentración del esteroide aplicado. Los resultados mostraron dos tendencias: la primera, estuvo relacionada a las dos dosis de NOR a la misma edad, estimándose que a mayor concentración de NOR se registró una mayor proporción de peces intersexuales; la segunda tendencia, considera la edad a la que se administra el Norgestrel, ya que a mayor edad en que se aplica el esteroide es mayor la proporción de peces intersexuales, a excepción de la dosis de 30 mg/kg a una edad de 24 días, que registro una mayor proporción de peces intersexuales que la dosis de 50 mg/kg a la edad de 5 y 18 días.

De acuerdo con lo anterior, el tratar a los peces a los 5 días de nacidos, fue determinante para obtener una relación inversamente proporcional, ya que a mayor porcentaje de masculinización, es menor el porcentaje de peces intersexuales. Esta estrategia para masculinizar a los peces, coincide con la mayor parte de los autores que aplican los esteroides a los peces cuando las gónadas no están diferenciadas, es decir, durante los primeros días de edad. Al respecto, Yamamoto (1969) menciona que una reversión funcional se logra en los Cíclidos cuando son tratados con hormonas durante el estadio en que las gónadas están sexualmente indiferenciadas, lo cual sucede cuando los peces son menores de 20 días y debe continuarse hasta la diferenciación sexual. Mientras que Nakamura y Takahashi (1973) reportan el mismo caso de los Cíclidos, registrando un periodo de sensibilidad para que las hormonas sexuales exógenas puedan completar una reversión sexual y lo ubican entre los 10 y 25 días, después de eclosionar. De lo anterior, se puede deducir que el mecanismo regulador de la diferenciación masculina debe estar presente durante las fases tempranas del desarrollo del pez, incluyendo los receptores específicos que modulan la expresión del gen principal de la diferenciación gonadal.

La identificación del sitio de los receptores, permitiría delimitar el lugar de acción de los esteroides exógenos y con ello sugerir un modelo más preciso de la acción hormonal, ya que existe una controversia acerca de que los receptores mediadores de la acción hormonal en la determinación del sexo. Existen evidencias para sugerir que deben estar localizados en el cerebro o probablemente, si los andrógenos actúan directamente en las gónadas indiferenciadas, entonces los receptores deberían estar localizados en las gónadas (Francis, 1992), en cuyo caso es probable que este tejido fuera el blanco de los tratamientos con los

esteroides exógenos, como se documenta en el presente trabajo. Sin embargo, la presencia de receptores de los andrógenos se han localizado en el citosol y en extractos nucleares del cerebro de la carpa dorada, *Carassius auratus*, según Pasmanik y Callard (1988).

En el caso de *X. helleri*, la edad es un factor determinante para asegurar que la masculinización de los peces se efectúe en forma eficiente, ya que la aplicación de los agentes masculinizantes se realiza cuando las gónadas no están diferenciadas, sobretodo durante los cinco primeros días, como lo reportan Jessy y Varghese (1987); Nava-Bautista y Rodríguez-Gutiérrez (1995) y Marañón *et al.* (1999). Siendo el reporte de Lim *et al.* (1992) el único registro en que se aplican tratamientos en peces de tres semanas de edad.

En la presente evaluación se consideraron los resultados de estos autores para establecer la mejor edad para revertir el sexo del pez espada, por esta razón, se consideró conveniente la edad de 5 días, pero sobretodo se tomó en consideración el reporte de Lim *et al.* (1992) para proponer que los peces fueran tratados entre los 18 y 24 días, ya que son los únicos autores cuyos resultados se aplican en el manejo del cultivo comercial de *X. helleri* en su país de origen, Singapur.

Mientras que en el caso de *P. reticulata*, Takahashi (1974, 1975) argumenta que la mejor edad de aplicación para provocar una reversión sexual completa es antes de que cumplan 20 días de edad, aunque dicho autor aplicó sus tratamientos en crías recién nacidas; Dzwillo (1962, 1966), citado por George y Pandian (1995) trató juveniles de 8 días de edad, al igual que Pandian (1993); Clemens *et al.* (1966) y Maya (2007) trataron crías recién nacidas. El único reporte de masculinización a una mayor edad es el de Azpeitia (1997) quien trato a los juveniles a una edad de 30 días.

En general, los autores antes citados únicamente analizan la masculinización de los peces en respuesta al tipo y concentración del esteroide, además de las secuelas causadas en las características sexuales primarias y secundarias. De está forma, se omite información valiosa al no evaluarse otros indicadores que permitan tomar decisiones con base en la combinación de los indicadores, como se realizó en el presente documento al seleccionar como mejor propuesta al Norgestrel, como una estrategia para agregar valor al cultivo comercial.

Otra forma de ilustrar la ponderación de los indicadores de eficiencia debido a la edad de aplicación del esteroide se encuentra en el contraste entre los resultados de Maya (2007), quien reporta que cuando *P. reticulata* es tratado a un día de edad con ATB a una concentración de 200 mg/kg, durante 60 días, se obtiene el 100% de masculinización y una sobrevivencia del 84.4%, pero el tamaño del cuerpo y de la aleta caudal es menor, en proporción, que cuando los peces son tratados a los 30 días con 300 mg/kg de ATB, al igual que la sobrevivencia, que fue de 93.3%, según Azpeitia (1997). Sin embargo, después de 120 días el porcentaje de intersexuales en los peces tratados al primer día fue de 5.26%, mientras que los tratados al día 30 fue del 38%, después de 100 días. Con estos resultados el experto en el manejo de este pez puede delimitar una mejor estrategia.

Aunado al análisis anterior, se tendría que considerar que tan conveniente es masculinizar a los peces si crecen enanos o tal vez con una sobrevivencia baja, o probablemente los peces sean poco estéticos al crecer deformes, o en el caso del 19-NAD que crecen muy corpulentos en forma de globo pero no son agradables antes los parámetros estéticos establecidos en el mercado para los peces de ornato. Es decir, si el objetivo es generar información para el manejo comercial del cultivo de *X. helleri*, entonces se debería de tener presente los estándares del mercado, como el instrumento que permite orientar el tipo, la forma y el color que tendría éxito en la actividad comercial.

De lo anterior, se deduce, que la concentración del esteroide y la edad del pez es determinante para: obtener el sexo que se desea, disminuir la proporción de peces intersexuales, aumentar la sobrevivencia al tratar a los peces a una mayor edad y obtener organismos de mayor tamaño con una determinada forma.

### *Crecimiento*

Se corroboró en esta fase, que el Norgestrel es un excelente masculinizante, pero su actuación como anabólico es pobre, pero lo suficientemente potente para promover un mayor crecimiento ( $P < 0.05$ ) en los peces tratados, que se refleja en el peso, altura y en talla, con respecto a los machos de cada uno de los grupos testigo, a excepción de la altura en las edades de 18 y 24 días. Aunque no es tan eficaz, como el 19-NAD y el ATB, como

para superar el crecimiento de las hembras de los testigos ( $P < 0.001$ ), que presentaron un mayor peso y altura, pero una menor talla.

Los peces tratados a los 24 días con 50 mg/kg fueron los que registraron la mayor talla, pero la mejor opción fue cuando los peces se trataron a los 5 días con 30 mg/kg, ya que la diferencia entre ellos fue mínima, considerando que los primeros son 19 días más jóvenes y se esperaría una mayor talla cuando tuvieran la misma edad. En general los peces tratados a los 18 y 24 días registraron una mayor acumulación de biomasa, que se reflejó en la altura y sobretodo en el peso, ya que todo indica que cuando los peces son tratados a los 5 días el esteroide no funciona como anabólico al no incrementar la biomasa ( $P \geq 0.05$ ); por el contrario, los peces tratados a los 18 y 24 días incrementaron su biomasa en más del 50%, con respecto al peso estimado de su respectivo testigo ( $P < 0.001$ ); mientras que para la altura de los peces, la mejor opción fue la dosis de 50 mg/kg a la edad de 24 días, quienes registraron valores superiores a los machos del testigo y cualquiera de los tratamientos.

Un aspecto que debe servir para determinar el mejor manejo, es la relacionada con los parámetros morfométricos de los intersexuales, ya que excluyendo la altura de los peces registraron una mayor talla y peso que las hembras del testigo de cada una de las tres edades, sobretodo el tratamiento de 30 mg/kg a la edad de 5 días que registró el mayor incremento. Por el contrario, ninguno de los tratamientos de los peces masculinizados, a cualquier edad y dosis, superaron los valores de las hembras del testigo.

Con base en lo anterior, la reflexión que debe ser considerada para agregarle valor al cultivo de *X. helleri*, es que una vez establecida la estrategia en base de tratar a los peces a los 5 días con el Norgestrel con una dosis de 30 mg/kg, faltaría solucionar el como generar formas de mayor corpulencia, la alternativa podría ser a través del manejo de los intersexuales, porque hasta ahora pareciera ser que es un inconveniente. La ausencia de información sobre esta estrategia sugiere dos situaciones: La primera es que la información existe y se aplica, pero no es del dominio público porque significaría disminuir una fuente de ingresos al comercializar dichos peces y la segunda, es que en caso de que no existiera esta estrategia, se tendría que incrementar el número de investigaciones para determinar su factibilidad.

### *Modelos de crecimiento*

A diferencia de la fase anterior, en donde se seleccionó el Norgestrel con base en la comparación entre ocho curvas de crecimiento, en esta se planteó la necesidad de tener un punto de referencia para contrastarlo con el crecimiento de los peces debido a la edad en la que son tratados los peces con el esteroide. Por esta razón, se consideró adecuado generar los modelos de las tres edades con los datos de las hembras del testigo, dado que no fue posible estimarlo con los registros de los machos.

La presencia de los peces intersexuales fue un factor que incremento la variabilidad de los modelos estimados, ya que crecieron de forma distinta y en el transcurso de la evaluación no había manera de discriminarlos porque que todo indicaba que se trataba de un pez masculinizado de un mayor tamaño que los otros, pero una vez que fueron clasificados en esta categoría ya no se ya no se incluyeron los datos.

Su efecto se reflejo en los coeficientes de determinación ( $r^2$ ) que fluctuaron entre el 50.2 y 77.7%, siendo porcentaje de explicación menores a los registrados en la segunda fase, que variaron de 57.1 a 78.2%. Sin embargo, el análisis de la variabilidad indicó que las curvas estimadas, se distribuyen dentro de la distancia intercuartil de los diagramas de caja y se encuentran cercanos a la mediana, indicando que los modelos describen en forma adecuada el crecimiento de los peces. La prueba de covarianza determino que al menos uno de los coeficientes de crecimiento de los tratamientos difiere significativamente ( $P < 0.001$ ) del resto.

Es importante destacar una tendencia de los coeficientes de determinación asociada a la edad, ya que los más bajos corresponden a los peces tratados a los 24 días, y coinciden con la mayor proporción de peces intersexuales y además, la dosis de 50 mg/kg registró la tasa de crecimiento más pequeña. Por el contrario, los peces tratados a los 5 días registraron los modelos con el mayor porcentaje de explicación, la menor proporción de intersexuales y en particular, la dosis de 30 mg/kg registró la tasa de crecimiento más grande. Mientras que los modelos de crecimiento a la edad de 18 días son contrastantes, ya que la dosis de 50 mg/kg presentó la menor desviación estándar del crecimiento ( $s_k$ ), un mayor porcentaje de explicación y de intersexuales que la dosis de 30 mg/kg.

Respecto a los modelos de las hembras del testigo, las curvas indican que a mayor edad en que fueron tratados los peces es mayor el crecimiento, como se esperaba, ya que aparentemente no hay ninguna razón para sospechar que debieron tener un crecimiento distinto. Sin embargo, los peces de 5 días presentaron un crecimiento diferencial ( $P < 0.03$ ) con respecto a los tratamientos de 18 y 24 días, entre estas dos últimas grupos no se determinaron diferencias ( $P \geq 0.05$ ). Es posible que la manipulación de los peces de 5 días haya repercutido sobre el ritmo de crecimiento de los organismos, o tal vez fue debido al alcohol que contenía el alimento, influyendo sobre los peces jóvenes pero no sobre los de 18 y 24 días.

Por el contrario, cuando los peces de 5 días son tratados con el NOR en ambas dosis presentan una mayor eficiencia para asimilar el alimento y se manifiesta en un mayor crecimiento, que incluso difiere significativamente ( $P < 0.02$ ) que cuando se aplica a la edad de 18 y 24 días, mientras que entre estos dos últimos grupos no se determinaron diferencias ( $P < 0.05$ ). La respuesta de los peces debido a la dosis se puede simplificar, ya que cuando se aplica a 30 mg/kg se obtiene una curva de crecimiento superior a las dos edades experimentales, mientras que cuando se aplica a dosis de 50 mg/kg se obtiene que la curva de crecimiento superior a la de los peces de 18 días, pero no de los tratados a los 24 días.

Comparación las nueve curvas de crecimiento estimadas en esta fase, se destaca el crecimiento excepcional de los peces de 5 días tratados con 30 mg/kg, ya que las tallas iniciales fueron muy pequeñas y casi terminaron siendo del mismo tamaño que el tratamiento que registro la mayor curva de crecimiento, que fueron los peces tratados a los 24 días con 50 mg/kg, como se observó en la Figura 35, la diferencia fue mínima sobretodo si se considera que los peces tienen 19 días menos de edad, de tal forma que si se reemplaza en el modelo la edad faltante se obtendría una talla de 3.47 cm, que resulta ser 0.04 cm inferior al tratamiento referido. Incluso, un elemento que se considera deseable en el manejo de *X. helleri* es que, además de que crezcan en forma sobresaliente, alcancen la longitud máxima en el menor tiempo posible. Desde esa perspectiva, el modelo estima que para alcanzar la longitud máxima de los peces tratados a los 5 días con la dosis referida se requieren de  $300 \pm 15$  días, mientras que los peces tratados a la edad de 24 días con 50 mg/kg requieren de  $420 \pm 30$  días.

### Beneficio económico

Un aspecto que es determinante para realizar la proyección económica fue como considerar a los peces intersexuales en la proyección económica, ya que el macho y la hembra tienen un precio diferencial, sobre todo que en la literatura no está considerada su presencia como un objeto comercial. En esta fase se omitieron para una posterior discusión, bajo esta consideración los resultados obtenidos muestran tres situaciones: 1). Los peces tratados con el norgestrel a cualquier edad y dosis registran un mayor beneficio económico que el que se obtiene con los peces que no se les aplicó el esteroide; 2). La dosis de 30 mg/kg es el tratamiento que reporta el mayor ingreso; 3). La mejor edad de aplicación del esteroide es la de 5 días en ambas dosis, quienes registraron una ganancia, con respecto al beneficio del grupo testigo, del orden de 303.4 y 259.1% para la dosis de 30 y 50 mg/kg, respectivamente.

Sin embargo, es posible considerar a los peces intersexuales como un factor que agrega valor a la producción comercial, considerando que el mercado está sujeto a criterios subjetivos que otorgan precios difíciles de entender, como es el caso de las formas aberrantes en que se convierten los intersexuales. Es decir, para tener la gama de posibilidades económicas se presentan tres posibles escenarios para analizar el valor de la cosecha agregando el precio de los intersexuales como machos, hembras o simplemente no se toman en cuenta, como se describe en la tabla 11.

Tabla 11. Beneficio económico de *X. helleri* a distintas dosis de Norgestrel y edad de aplicación sobre el precio comercial, considerando el valor de los peces intersexuales.

Edad (días)	Dosis (mg/kg)	Intersexos (n)	Precio estimado (\$)		
			♀	♂	Sin considerar
5	30	2	226.1 ± 24.5	233.6 ± 17.6	222.6 ± 23.8
	50	5	200.1 ± 22.6	222.6 ± 16.8	190.1 ± 20.3
18	30	3	220.7 ± 24.0	228.1 ± 17.2	217.2 ± 23.2
	50	3	157.2 ± 17.4	166.4 ± 18.2	152.0 ± 16.2
24	30	4	214.8 ± 24.5	244.4 ± 18.5	200.9 ± 21.5
	50	7	153.3 ± 17.7	190.1 ± 20.3	156.8 ± 18.5

El análisis indicó que la edad de 5 días con dosis de 30 mg/kg es la estrategia que genera el mayor beneficio cuando los peces intersexuales son considerados como hembras y cuando no se consideraron en el análisis. Mientras que cuando son considerados como machos, la mejor opción es la edad de 24 días a dosis de 30 mg/kg, aunque desde el punto de vista estético los peces intersexuales son formas aberrantes, por lo que es difícil de concebir que a esta edad sea la mejor estrategia. De lo anterior se deduce, que la dosis más baja de norgestrel es la idónea.

## **Perspectivas**

Entender las interacciones genotipo-ambiente es de gran interés para la gestión adecuada de la piscicultura de ornato sobretodo cuando se quiere agregar valor a la producción, a través de la inducción del sexo de los peces.

La estrategia que se mostró en el presente documento, se podría implementar en las granjas para optimizar los ciclos de producción y comercializar un sexo o una forma determinada. De esta manera, se obtiene una mayor proporción de machos en un menor tiempo, con respecto a los estándares de las mismas granjas de producción. Sobretodo si se considera que en la unidad de producción casi todos los peces son hembras y estas no son tan rentables como los machos, que se cotizan 3.14 veces más que la hembra en el mercado nacional y entre 1.5 y 2.5 en el internacional. Por lo tanto, es factible orientar el proceso natural en base al conocimiento de la especie y de los inductores del sexo, para redistribuir la proporción de machos y hembras, así mismo se disminuiría el gasto de operación y se aumentaría el ingreso económico, repercutiendo en la rentabilidad de la empresa comercial.

Una situación que permite suponer este escenario y que sirve de incentivo para el productor, es la divergencia en el precio de los peces importados con respecto al nacional, ya que el consumidor tiene que pagar la ganancia de cada uno de los intermediarios que intervienen en el proceso, desde que los extraen del estanque en su país de origen hasta los que realizan el traslado y distribuyen a los peces en el país, además del flete del transporte y todos los gastos que se deriven de importar una mercancía, incluyendo el pago de derechos e impuestos que ocasionan que se encarezca el costo del pez. Esta es una de las razones por las cuales se debe impulsar la piscicultura de ornato en el país.



El potencial económico de la piscicultura de ornato en México es inimaginable, considerando la ubicación geográfica, la variedad de patrones climáticos, la cantidad de cuerpos de agua, pero sobretodo por la cercanía con el más importante mercado de peces de ornato del mundo, Estados Unidos. Por estas razones se tendría que considerar al país en una situación comercial envidiable.

Sin embargo, para que este escenario sea factible es necesario que se considere que la estrategia del uso de esteroides para orientar el sexo de los peces debe pasar por los estándares de protección ambiental, tanto para la contención de residuos esteroideos como para el cuidado del agua, el suelo y sobretodo la salud del piscicultor. A pesar de que no existe una legislación sanitaria que permita normar el uso de esteroides en dicha actividad acuícola se podría implementar una estrategia similar al citado país, de la siguiente forma:

La actividad acuícola tiene como premisa de operación conciliar los distintos intereses del sector productivo con el impacto que podría ocasionar el uso de esteroides, de esta forma se evitaría un posible conflicto entre los distintos sectores que participan, al integrar el eje: Estado (Agencias Federales) – Instituciones Públicas (Universidades) y Empresas Particulares (piscicultores y productores de insumos), como lo reportan Teichert-Coddington *et al.* (2000), quienes describen una estrategia para agregar valor al cultivo de la tilapia por la utilización de la  $17\alpha$ -Metiltestosterona, de la siguiente forma:

La Agencia de Administración de Alimentos y Drogas (FDA) autoriza un programa piloto para evaluar la reversión sexual de la tilapia mediante la venta controlada de alimento tratado con  $17\alpha$ -MT, a través del Programa de Investigación de Drogas Nuevas en Animales (INAD), dependiente de la Universidad de Auburn, Alabama. Bajo este programa piloto el alimento es elaborado por Rangen Feeds, Inc. Buhn, Idaho. Los productores reciben el alimento tratado con  $17\alpha$ -MT a través del INAD, si estos presentan un protocolo para el uso de este alimento enriquecido y permiten evaluaciones periódicas en sus granjas para avalar su manejo responsable. La eficiencia de la reversión sexual de los peces es evaluada periódicamente en las granjas por el INAD, a través del análisis microscópico de las gónadas y del tejido del pez para evaluar las trazas del esteroide, con el objeto de asegurarse que al ser consumido no contenga trazas del mismo. Bajo este esquema se genera la información para garantizar

el uso correcto de agentes químicos y se salvaguarda los distintos intereses de la actividad acuícola y el consumidor. Este esquema operativo es susceptible de ser implementado en nuestro país para anticipar un posible escenario de conflicto, considerando el crecimiento de la piscicultura de ornato en los últimos años.

Por las razones anteriores, es necesario que los productores nacionales puedan incrementar o sostener la producción, plantear estrategias que les permitan mantenerse flexibles y capaces de adaptar la producción a los rápidos cambios del mercado, así como sostener las altas tasas de rentabilidad con el fin de proteger la posesión de la tierra de las presiones de los capitales nacionales y extranjeros, ya que a partir de las modificaciones al artículo 27 constitucional esta puede ser vendida o enajenada, sobretodo en el estado de Morelos (Martínez *et al.*, 2004). Además, se derivarían otros beneficios como el fomentar la creación y el manejo adecuado de empresas dedicadas al cultivo de peces de ornato que contribuiría de manera concreta a crear empleos, evitar la fuga de divisas y a la recuperación de las poblaciones de especies silvestres, ya que estas han sido disminuidas por la degradación de su ambiente, que ha ocasionado la pérdida de su hábitat y la contaminación del agua, por lo que es importante conocer el efecto de los agentes químicos en el agua, pez y sustrato.

La aplicación del Norgestrel con dosis de 30 mg/kg de alimento en *X. helleri* es una alternativa en el manejo de técnicas para mejorar el cultivo, considerando el análisis económico de Fernando y Phang (1985) sobre el proceso productivo de granjas comerciales en Singapur, que es el principal productor de Poecílidos en el mundo, ya que el rubro más caro del costo de operación es el alimento y la proteína es el ingrediente más oneroso de la dieta. De lo anterior, se deduce que la mejor estrategia financiera sería que el productor adquiriera alimento comercial con menor cantidad de proteína para disminuir el costo y que al combinarlo con un anabólico, promoviera en el pez una mayor tasa de absorción, además, de inducir poblaciones monosexuales de machos.

El resultado se reflejaría en el aumento de la rentabilidad de la producción, ya que al orientar el sexo del pez y acelerar su tasa de crecimiento se alcanzará una forma deseada en menor tiempo, con la consecuente disminución del costo de operación y la incertidumbre del comportamiento de la oferta recurrente y una serie de factores incontrolables, casi todos de origen climático, que pueden afectar de manera sensible la producción.

## IX. CONCLUSIONES

1. El diagnóstico de la unidad de producción permitió establecer un excelente punto de referencia del cultivo comercial de *Xiphophorus helleri*, a pesar de que la evaluación mostró un amplio margen de tolerancia del pez a las condiciones físico químicas del agua, siendo un factor limitante del crecimiento la temperatura y el pH del agua. La sobrevivencia estimada fue de 74.1% para el ciclo anual que se analizó, siendo la proporción de machos pequeña, ya que fluctuó entre 8.2 y 37.3%.

2. El trabajo desarrollado en el laboratorio indicó que la aplicación de los esteroides en *X. helleri* fue exitosa, considerando que:

1. No causó daño a los peces al registrarse una sobrevivencia del 95% en 6 de los 8 tratamientos, que fue igual o superior al grupo de los peces del testigo.
2. La aplicación de los cuatro esteroides a los peces registró una eficiencia masculinizante superior al 91%, a excepción de la  $17\alpha$ -Metiltestosterona, mientras que el testigo registró 8.6% de machos. Los mejores tratamientos fueron en base al Norgestrel y la 19-Norandrostendiona, además del Acetato de Trembolona a dosis de 30 mg. Sin embargo, el efecto residual del Norgestrel y la 19-Norandrostendiona se reflejó en la presencia de peces intersexuales, sobretodo este último que reportó entre el 8.6 y 20.6%.
3. Como anabólico fue eficiente, al registrarse una mayor corpulencia en el peso, talla y altura en los peces tratados con respecto a los machos que no se les administro esteroide. Incluso, la mayor parte de los tratamientos fueron tan eficientes que los peces registraron parámetros morfométricos similares o superiores al de las hembras del testigo. El mejor promotor del peso fue la 19-Norandrostendiona y en menor proporción el Acetato de Trembolona a dosis de 50 mg/kg, mientras que en la talla, los mejores promotores del crecimiento fueron Norgestrel y la 19-norandrostendiona.
4. El análisis económico indico que los peces tratados con esteroides aportaron un

mayor beneficio económico, con respecto al testigo, sobretodo los peces tratados con ambas dosis del Norgestrel, ya que se estimó un ingreso entre \$ 222.6 y \$ 233.6. El tercer mejor tratamiento fue el obtenido con el Acetato de Trembolona a dosis de 50 mg/kg, quien aportó un beneficio de \$ 198.8, mientras que el testigo registró \$ 180.4.

5. En base a la ponderación de los estimadores de eficiencia, se selecciono al Norgestrel, considerando que fue el mejor tratamiento, al registrar la mayor sobrevivencia, masculinización, talla y generar el mayor beneficio económico, siendo deficiente únicamente en el peso, pero promovió los peces más estéticos con una coloración más intensa.
  
3. En lo concerniente a la edad de aplicación del Norgestrel, la mayor sobrevivencia la presentaron los peces que se les administró el esteroide a la dosis de 30 mg/kg, incluso fue superior a los del testigo, por el contrario, la menor sobrevivencia la presentaron los peces tratados a la edad de 18 días con la dosis de 50 mg/kg.
  
4. La edad más conveniente para masculinizar a *X. helleri* con el norgestrel es entre los 5 y 18 días a dosis de 30 mg/kg, con una eficiencia superiores al 94%, contrastando con el porcentaje de masculinización de los tres grupos testigos, quienes registraron entre el 8 y 12% de machos. Por el contrario, la edad de 24 días fue la más ineficiente al registrarse la mayor cantidad de peces intersexuales, sobretodo con la dosis de 50 mg/kg.
  
5. Se confirmo que el Norgestrel es un excelente masculinizante, pero su actuación como anabólico es pobre, en general los peces tratados a los 18 y 24 días registraron una mayor acumulación de biomasa, con respecto a su testigo, pero cuando se aplica a los 5 días no incrementa la biomasa, aunque fue superior a los machos del testigo El único parámetro morfométrico en que destaca el Norgestrel es en la talla, siendo la mejor opción cuando los peces son tratados a los 5 días con 30 mg/kg.
  
6. El análisis económico que se realizó con las tres edades propuestas, confirmó que la mejor estrategia para agregarle valor al cultivo comercial de *X. helleri* es tratándolo a los peces a los 5 días con Norgestrel a una dosis de 30 mg/kg de alimento.

## XI. LITERATURA CITADA

- Acevedo, C., 1974. Evolution des enveloppes ovocytaires, au cours delovogenese, chez un teleoste en vivipare, *Xiphophorus helleri*. *J. Microsc* 2(1): 43-54.
- Álvarez del Villar, J., 1970. *Peces Mexicanos*. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesquera. Secretaria de Industria y Comercio. México. 166 p.
- Anderson, P., 1991. Trenbolone acetate as growth promotion. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 7(13):1179-1190.
- Ávila, G., Shimada, S. y L. Llamas, 1990. *Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria*. Sistema de educación continúa en producción animal en México A. C. México. 214 p.
- Azpeitia, H. A., 1997. *Efecto del esteroide acetato de trembolona en la reversión sexual y crecimiento del guppy (Poecilia reticulata), variedad king cobra*. Informe de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D. F. 55 p
- Baldwin, F. M., Goldin, H. S. y M. Metfessel, 1940. Effects of testosterone propionate on female Roller canaries under complete song isolation. *Proceeding Society of Experimental Biology Medicine* 44:373-375.
- Bartle, S. J., Preston, R. L., Brown, R. E. y R. J. Grant, 1992. Trenbolone acetate/estradiol combinations in feedlot steers: Dose-response and implant carrier effects. *Journal of Animal Science* 70:13-26.
- Bassleer, G., 1994. The international trade in aquarium /ornamental fish. *Infofish International* 5:15-17.
- Begon, M., Harper, J. L. y C. R. Townsend, 1990. *Ecology: Individuals, Populations and Communities*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, Uk. 945 p.

- Breder, C. M. y C. W. Coates, 1932. A preliminary study of population stability and sex ratio of *Lebistes*. *Copeia* 147-155.
- Bromage, N., Duston, J., Randall, C. F., Brook, A., Thrush, M., Carrillo, M. y S. Zanuy, 1990. Photoperiodic control of teleost reproduction. *Prog. Comp. Endocrinol* 342: 620-626.
- Bye, V. J., 1984. The role of environmental factors in the timing of reproductive cycles. pp.187-205. En: Pots, G. y R. Wotton, (Eds.). *Fish Reproduction: Strategies and Tactics*. Academic Press, London, UK.
- Cardona, I. y L. Sanclemente, 1986. *Acción del undecilenato de boldenona (equipoise) más un implante de estradiol progesterona (Ganamax-m) en la ceba de novillos cebú comercial*. Tesis Universidad Nacional sede Palmira, Brasil. 67 p.
- Carrillo, M. y S. Zanuy, 1993. Fisiología de la reproducción: Fisiología de la reproducción de los Teleósteos. pp.125-142. En: Castelló, O. (Coord). *Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Universidad de Barcelona.
- Chang, X., Kobayashi, T., Todo, T., Ikeuchi, T., Yoshiura, Y., Kajiura-Kobayashi, H., Morreo, C. y Y. Nagahama, 1999. Molecular cloning of estrogen receptors alpha and beta in the ovary of a teleost fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Zool. Sci* 16:653-658.
- Charnov, E. y J. Bull, 1977. When is the sex environmentally determined? *Nature* 266:828-830.
- Clemens, P., Mc Dermitt, C. y T. Inslee, 1966. The effects of feeding methyltestosterone to guppies for sixty days after birth. *Copeia* 2:280-284.
- Cohen, H., 1946. Effects of sex hormones on the development of the platyfish, *Platypoecilus maculatus*. *Zoologica* 31:121-128.
- Conover, D. O., 1984. Adaptive significance of temperature-dependent sex determination in a fish. *Amer. Nat* 123:297-313.

- Conover, D. O y W. Heins, 1987. Adaptive variation in environmental and genetic components of sex determination in a fish. *Nature* 326:496-498.
- Conover, D. O y B. Kynard, 1981. Environmental sex determination: interaction between temperature and genotype in a fish. *Science* 213: 577-579.
- Constantz, G., 1989. *Reproductive biology of poeciliids fishes*. pp. 33-50. En: Meffe, G.; Snelson F. Jr.; Parenti, L; Rauchenberger, M; Constantz, D.; Angus, R.; Schultz, J.; Farr, J.; Reznick, D.; Miles D.; Kallman, K.; Travis, J.; Trexler, J.; Echell A.; Wildrick D.; Echelle F.; Smith, M.; Scriber K.; Hernández, D.; Wooten, M.; Wetherington, J.; Schenck, R.; Vrijenhoek, R.; Balsano, J.; Rasch, E.; Monaco, P.; Johnson, J.; Hubbs, C.; Courtney, W. Jr.; Arthington, A. y L. Lloyd. (Compiladores). *Ecology and evolution of livebearing fishes*. Simon y Schuster (Editores.), New York, USA.
- Contreras-Sánchez, W., Fitzpatrick, M. S., Milston, R. H. y C. B. Schreck, 1997. Masculinization of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by single immersion in 17 $\alpha$ -Methildihydrotestosterone and Trenbolone Acetate. 2: 783-790. En: Fitzsimmons, K. (Editor), *Fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Department of Soil, Water and Environmental Science, University of Arizona, USA.
- Davies, K., Morrison, R. y J. Galvez, 2000. Reproductive characteristics of adult channel catfish treated with trenbolone acetate during the phenocritical period of sex differentiation. *Aquaculture* 189: 351-360.
- Dawes, J., 1991. *Livebearing fishes*. Blandorf. England. 239 p.
- Devlin, R. y Y. Nagahama, 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture* 208:191-364
- Dildine, C., 1936. Studies in teleostean reproduction. Embryonic hermaphroditism in *Lebistes reticulatus*. *J. Morph* 60: 261-273.

- Draper, N. y H. Smith, 1981. *Applied regression analysis*. John Wiley and Sons. New York, USA. 709 p.
- Endler, J., 1995. Multiple traits coevolution and environmental gradients in guppies. *Trends in Ecological Evolution* 10: 22-29.
- Espinosa, H., Gaspar, M. y P. Fuentes, 1993. III. *Los peces dulceacuícolas Mexicanos*. Serie: Listados Faunísticos Mexicanos. Instituto de Biología. UNAM, México. 99 p.
- Essenberg, J. M., 1923. Sex differentiation in the viviparous teleost *Xiphophorus helleri* Heckel. *Biol. Bull* 45:46-97.
- Falconer, D. S., 1989. *Introduction to quantitative genetics*. 3<sup>a</sup>. Ed. Longman, New York, USA. 340 p.
- FAO, 1980. Conservación de los recursos genéticos de los peces: Problemas y recomendaciones. Informe de la consulta de expertos sobre los recursos genéticos de los peces. FAO. *Doc. Téc. Pesca* (217). 42 p.
- Farr, J. A., 1981. Biased sex ratios in laboratory strains of guppies, *Poecilia reticulata*. *Heredity* 47:237-248.
- Fernando, A. A. y V. P. E. Phang, 1985. Culture of the guppy, *Poecilia reticulata*, in Singapore. *Aquaculture* 51: 49-63.
- Fitzpatrick, M. S., Pereira, C. B. y C. B. Schreck, 1993. In vitro steroid secretion during early development of mono-sex rainbow trout: sex differences, onset of pituitary control, and effects of dietary steroid treatment. *Gen. Comp. Endocrinol* 91:199-215.
- Francis, R. C., 1992. Sexual lability in teleost: developmental factors. *Quart. Rev. Biol* 67(1): 1-18.



- Galvez, J. Y., Mazaki, P. M., Phelps, R. P. y D. R. Mulvaney, 1995. Masculinization of channel cattfish *Ictalurus punctatus* by oral administration of trenbolone acetate. *Journal of the World Aquaculture Society* 4(26):378-383.
- Galvez, J. Y. y J. R. Morrison, 1996. Efficacy of trenbolone acetate in sex inversion of the blue tilapia *Oreochromis aureus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 4(27):483-486.
- García, E., 1986. *Nuevo atlas del territorio nacional*. Ed. Porrúa, México. pp. 73-74.
- George, T. y J. Pandian, 1995. Production of zz female in the female heterogametic molly, *Poecilia sphenops* by endocrine sex reversal and progeny testing. *Aquaculture* 136: 81-90.
- Goodrich, H., Dee, J., Flynn, C. y N. Mercer, 1934. Germ cells and sex differentiation en *Lebistes reticulata*. *Biol. Bull* 67: 83-96.
- Green, B., Veverica, K. y M. Fitzpatrick, 1997. Fry and fingerling production. pp. 215-243. En: Egna, H.S y C.E. Boyd (Eds) "*Dynamics of pond aquaculture*". CRC Press, Boca Raton, New York. USA.
- Guerrero, R., 1975. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Trans. Am. Fish. Soc* 2:342-348.
- Guiroy, P., Tedeschi, L., Fox, D. y J. Hutcheson, 2002. The effects of implant strategy on finished body weight of beef cattle. *Journal of Animal Science* 80:1791-1800.
- Hayden, J., Bergen, D. y R. Merkel, 1992. Skeletal muscle protein metabolism and serum growth hormone, insulin, and cortisol concentrations in growing steers implanted with estradiol-17p, trenbolone acetate, or estradiol-17 plus trenbolone acetate. *Journal of Animal Science* 70:2109-2119.
- Henricks, D. M., Brandt, R. T., Titgemeyer, E. C. y C. T. Milton, 1997. Serum concentrations of trenbolone-17 $\beta$  and Estradiol- 17 $\beta$  and performance of heifers treated with trenbolone acetate, melengestrol acetate, or Estradiol-17 $\beta$ . *Journal of Animal Science* 75:2627-2633.

- Hicks, J. J., 2000. *Bioquímica*. 1<sup>a</sup>. Edición. Mc Graw Hill Interamericana. D.F. 899 p.
- Hoaglin, D., Mosteller, F. y J. Tukey, 1991. *Fundamentals of exploratory analysis of variance*. John Wiley and Sons Inc, New York. 527 p.
- Hoffman, B. y P. Evers, 1986. Anabolic agents with sex hormone-like activities: Problems of residues. pp. 111-146. En: Rico, E. (Ed.), *Drug Residues in Animals*. Veterinary Science and Comparative medicine: A Series. Academic Press, Inc. London, UK.
- Hunter, G. A. y E. M. Donaldson, 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. pp. 223-303. En: Hoar, W. S., Randall, D. J. y E. M. Donaldson (Eds.). *Fish Physiology*. Vol IX. Reproduction, Part B. Behavior and Fertility control. Academic Press, New York, USA.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI), 1998. *Cuaderno estadístico municipal. Jiutepec, Estado de Morelos, México*. 153 p.
- Jessy, D. y J. Varghese, 1987. Hormonal sex control in *Betta splendens* Regan and *Xiphophorus helleri* Heckel. pp. 123-124. En: *Indian Fisheries Forum* (Joseph, M. Eds.) India.
- Kallman, K. D. y J. W. Atz, 1966. Gene and chromosome homology in fishes of the genus *Xiphophorus*. *Zoologica* 51:107-135.
- Kavumpurath, S. y J. Pandian, 1993. Masculinization of *Poecilia reticulata* by dietary administration of synthetic or natural androgen to gravid females. *Aquaculture* 116:83-89.
- Kramer, C. R. y K. D. Kallman, 1985. Sex differentiation of somatic tissue in the unsexualised gonad primordial of the embryos of three species of poeciliid fish. *J. Anat* 140:269- 277.
- Lamb, D. J., Weigel, N. L. y M. Marcelli, 2001. Androgen receptors and their biology. *Vitam Horm* 62:199–230.

- Lim, B. H., Phang, V. P. E. y P. K. Reddy, 1992. The effects of shorts-term treatment of 17 $\alpha$ -Methyltestosterone and 17 $\alpha$ -estradiol on growth and sex ratio in the red variety of swordtail, *Xiphophorus helleri*. *J. Aquaculture Tropical* 7:267-274.
- Lodi, E., 1979. Instances of sex inversion in the domesticated swordtail, *Xiphophorus helleri* Heckel (Pisces: Osteichthyes). *Experientia* 35:1440-1441.
- Manzoor Ali, P. K. M. y G. P. Satyanarayana Rao, 1989. Growth improvement in carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus), sterilized with 17  $\alpha$ -methyltestosterone. *Aquaculture* 76:157-167.
- Marañón, S. y E. Maya, 1999. Masculinización de *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae) inducida por los esteroides norgestrel y androstenediona. *Hidrobiológica* 9(1):31-38.
- Márquez, A., 1999. *Inducción sexual en peces Xiphophorus helleri (Poeciliidae) a través de la administración de la 17 $\alpha$ -Metiltestosterona y de Dietiletilbestrol, en el alimento*. Tesis de Maestría (Ciencias Biológicas de la Reproducción), Facultad de Ciencias, UNAM. México. 65 p.
- Martínez Espinosa, D., Marañón Herrera, S. y A. Cárdenas Bravo, 2004. Análisis retrospectivo de la piscicultura de ornato en el estado de Morelos. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente* 5(8): 69-75.
- Martty, A. y D. Couto, 1976. *Espadas y Platys (Xiphophorus)*. Albatros. Buenos Aires. 107 p.
- Maya, E. y S. Marañón, 1998. Efecto del pH sobre la proporción de sexos, el crecimiento y la sobrevivencia del guppy *Poecilia reticulata* Peters, 1859. *Hidrobiológica* 8(2):125-132.
- Maya, E. y S. Marañón, 2001. Efecto de la temperatura sobre la proporción sexual de *Poecilia reticulata* Peters, 1859 (Pisces: Poeciliidae). *Hidrobiológica* 11(2):157-162.
- Maya, P. E., 2007. *El efecto de la temperatura, el pH y el esteroide acetato de trembolona y su interacción en la producción de organismos masculinos de Poecilia reticulata*. Tesis de Maestría (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM. México. 85 p.

- Mc Van, R. B., 1995. *Referencias farmacéuticas*. Ed. El Manual Moderno, S. A. de C. V. México. pp. 1476-1477.
- Menéndez, L., 1990. *Evaluación del cultivo de Carassius auratus y su rentabilidad en el criadero de producción ejidal en Atlacomulco, Morelos*. Informe de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D. F. 82 p.
- Méndez, I., Namihira, G., Moreno A. y M. Sosa, *El protocolo de investigación. Lineamiento para su elaboración y análisis*. Trillas. México. D. F. pp 11-14.
- Milton, D. y A. Arthington, 1983. Reproductive biology of *Gambusia affinis* Holbrooki bair and Girard, *Xiphoporus helleri* (Gunther) and *X. maculatus* (Heckel) (Pisces: Poeciliidae). *J. Fish Biol* 23:23-41.
- Mommsen, T. P y T. W. Moon, 2001. Hormonal regulation of muscle growth. pp. 251-308. En *Muscle Development and Growth, Vol. 18 Fish Physiology*, edited by Johnston I. A. Academic Press, San Diego, USA.
- Montgomery, D., 1984. *Design and analysis of experimental*. 2<sup>nd</sup>. Ed. William and Sons. Inc. New York. USA. 538 p.
- Nagahama, Y., 1999. Gonadal steroid hormones: major regulators of gonadal sex differentiation and gametogenesis in fish. *Sixth Int. Symp. on the Reproductive Physiology of Fish*, Bergen, Norway. pp. 217-219.
- Nakadate, M., Shikano, T. y N. Taniguchi, 2003. Inbreeding depression and heterosis in various quantitative traits of the guppy, *Poecilia reticulata*. *Aquaculture* 220(1):219-226.
- Nakamura, M. y H. Takahashi, 1973. Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica* with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing feminization of genetic fishes. *Bulletin of Faculty Fisheries, Hokkaido University*. 24: 1-13.

- Nakamura, Y., 1975. Dosage-dependent changes in the effect of oral administration of methyltestosterone on gonadal differentiation in *Tilapia mossambicus*. *Bulletin of the Faculty of fisheries, Hokkaido University* 26:99-108.
- Nava-Bautista, M. y M. Rodríguez-Gutiérrez, 1997. Effect of 17-alpha-methyltestosterone and vitamin B complex on the sexual reversion induction of two of the development stages of *Xiphophorus helleri*, Heckel, 1848 (Pisces: Poecillidae). *J. Aquacult. Trop* 12:65-71.
- Ordaz, G. Y., 1985. *Histología y morfología gonadal del pez, Xiphophorus helleri (Heckel, 1848) Hipofisis ectomizada y con lesión en el teocefalo ventral*. Tesis de Maestría (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM, México. 55 p.
- Orizaga, S. J., 1987. *Guía profesional de medicamentos*. Manual de consulta para médicos, odontólogos, farmacéuticos y quienes prescriben, administran o toman medicamentos. Ed. El Manual Moderno, S. A. de C. V. México. pp. 480-490.
- Pandian, T. J., 1993. Endocrine and chromosome manipulation techniques for the production of all-male and all-female populations in food and ornamental fishes. *Proceedings of the Indian National Science Academy Part B Biological Sciences* 59:549–566.
- Pandian, T. y S. Sheela, 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture* 138:1-22.
- Pasmanik, M. y G. Callard, 1988. A high abundance androgen receptor in goldfish brain: Characteristics and seasonal changes. *Endocrinology* 123:1162-1171.
- Pelissero C. y J.P. Sumpter, 1992. Steroids and “steroid-like” substances in fish diets. *Aquaculture* 107:283-301.
- Poulantzas, N., 1976. *Las clases sociales en el capitalismo actual*. Siglo XXI. México, D.F. pp. 37-47.
- Ricker, W. E., 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish population. *Bull. Fish. Res. Board Canada* 191:203-204.

- Rico, A. y V. Burgat, 1983. Nueva información sobre el metabolismo de anabólicos. pp. 112-121. En: *Anabólicos en producción pecuaria. Aspectos de salud pública, métodos de análisis y reglamentación*. Editeur Scientifique Meissonnier, editores. OIE, París, Francia.
- Roche, J. F. y J. F. Quirke, 1986. The effects of steroid hormones and xenobiotics on growth of farm animals. pp. 39-51. En: Buettry, P. J., Haynes, N. B. y D. B. Lindsay, (Eds.). *Control and manipulation of animal growth*. Butterworths, London, UK.
- Roisenstein, S. E., 1997. *Diccionario de especialidades farmacéuticas*. Ediciones PLM. Facultad de Medicina de París. pp. 1431-1433.
- Römer, U. y W. Beisenherz, 1996. Environmental determination of sex in *Apistogramma* (Cichlidae) and two other freshwater fishes (Teleostei). *Journal of Fish Biology* 48: 714-725.
- Rubin, D. A., 1985. Effects of pH on sex ratio in cichlids and a poecillid (Teleostei). Ichthyological notes, *Copeia* 1:233-235.
- Sánchez, C. N., 1994. *Reversión sexual de Poecilia velifera, Regan 1914 (Pisces: Poeciliidae) inducida por cinco agentes masculinizantes*. Informe de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. México. 51 p.
- Sánchez, M. C., 1994. *Cultivo de peces de ornato*. Ed. Sepesca-CICRO. México. 29 p.
- Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP), 1994- 2002. *Directorio Nacional de Acuacultura*, México. 109 p.
- Snelson, R. y J. Wetherington, 1980. Sex ratio in the sailfin molly, *Poecilia latipinna*. *Evolution* 34:308-319.
- Snelson, D., 1993. *Protected Area Conservation Strategy: Assessing the Training Needs of Protected Area Managers in Africa*. Country Report: Kenya. Washington: United States Agency for International Development, World Wide Fund for Nature, African Wildlife Foundation, Wildlife Conservation Society.

- Slanchev, K., Stebler, J. de la Cueva-Méndez, G. y E. Raz, 2005. Development without germ cells. The role of the germ line in zebrafish sex differentiation. *National Academic of Science*. USA. 102: 4074-4079.
- Sporri, H. y H. Stunzi, 1977. *Fisiopatología Veterinaria*. Acribia (Ed.) Zaragoza, España. 714 p.
- Spotila, R., Spotila, D. y N. Kaufer, 1994. Molecular mechanism of TSD temperature sex determination in reptiles: A search for the magic bullet. *Journal of Experimental Zoology* 270:117-127.
- Stryer, L., 1990. *Bioquímica*. Ed. Reverté. 3ª Ed. Barcelona, España. 1084 p.
- Sullivan, J. A y R. J. Schultz, 1986. Genetic and environmental basis of variable sex ratios in laboratory strains of *Poeciliopsis lucida*. *Evolution* 40:152-158.
- Takahashi, H., 1974. Modification of the development female reproductive organs in the guppy, *Poecilia reticulata*, following an androgen treatment in their juvenile period. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 25(3):174-199.
- Takahashi, H., 1975. Masculinization of the gonad of juvenile guppy, *Poecilia reticulata*, induced by 11- ketotestosterona. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 26(1): 11-22.
- Tamaru, C. S., Cole, B., Bailey, R., Brown C. y H. Ako, 2001. *A manual for commercial production of the swordtail, Xiphophorus helleri*. Center for Tropical and subtropical Aquaculture Publication, Honolulu, Hawaii. 36 p.
- Tavolga, W. N., 1949. Embryonic development of the Platyfish (*Platypoecilus*), the swordtail (*Xiphophorus*) and their hybrids. *Bull Am Mus Nat Hist* 94:167-229.
- Teichert-Coddington, D. R., Martínez, D. y E. Ramírez, 2000. Partial nutrient budgets for semi-intensive shrimp farms in Honduras. *Aquaculture* 190:139-154.

- Trivers, R. y D. Willard, 1973. Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* 179: 90-92.
- Van Aerle, R., Runnalls, T. J. y C. R. Tyler, 2004. Ontogeny of gonadal sex development relative to growth in fathead minnow. *Journal of Fish Biology* 64:355-369.
- Velasco, C. R., 1976. *Los peces de agua dulce del estado de Chiapas*. Ed. Gobierno del estado. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. pp. 71-83.
- Velasco, E., 1997. *Evaluación bioeconómica de un policultivo de peces de ornato: Lebistes reticulatus, Xiphophorus helleri y Plecostomus punctatus en Jiutepec, Morelos*. Informe de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. México. 47 p.
- Venkatesh, K., Hunther, H. y U. B. Henry, 2001. *Mechanism of Action of Estrogens and Selective Estrogen Receptor Modulators*. Vitamins and Hormones, Academic Press. Vol. 60.
- Weatherley, A. y H. Gill, 1987. *The biology of fish growth*. Academic Press (Ed), Londres, UK. 443 p.
- Walters, M. R., 1985. Steroid hormone receptors and the nucleus. *Endoc. Rev.* 6:512-543.
- Wilson, P. N. y T. D. A. Brigstocke, 1987. *Avances en la alimentación de vacuno y ovino*. Guía práctica de los conceptos modernos de la nutrición de los rumiantes. Edit. Acribia, España. 250 p.
- Yamamoto, T., 1969. Sex differentiation. pp. 117-175. En: Hoar y Randall (Eds.). *Fish Physiology*, Vol. 3. Academic Press, New York, USA.

### **Citas electrónicas**

- Aguirre, W., 1999. Species summary for *Xiphophorus helleri* Heckel (1848).  
<http://lionfish.ims.usm.edu/~musweb/nis/Xiphophorushelleri.html>



Arijón, 2003. <http://www.bouzada.d2g.com/Articulo.asp?Id=7yQuery=11%20yIndice=1>

Muñoz-Cueto J. A. Control hormonal de la reproducción en peces. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz, España. 54 p. <http://www.oannes.org.pe/seminariopecespdf/Revision%20Endocrinologia%20Reproductiva%20de%20Peces.pdf>