

Masculinización de *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae) inducida por los esteroides norgestrel y androstenediona

S. Marañón Herrera¹,
E. Maya Peña¹
y H. Salgado Zamora²

¹Laboratorio de Sistemas Acuícolas, Depto. El Hombre y su Ambiente, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, 04960. México.

²Departamento de Química Orgánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prol. de Carpio y Plan de Ayala s/n, 11340. México.

Marañón Herrera, S., E. Maya Peña y H. Salgado Zamora, 1999. Masculinización de *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae) inducida por los esteroides norgestrel y androstenediona. *Hidrobiológica* 9 (1): 31-38.

RESUMEN

Se analizó la eficiencia de los esteroides norgestrel y androstenediona (19-NAD) en juveniles de *Xiphophorus helleri* de 5 días de edad, durante 60 días a dosis de 30 y 50 mg/kg de alimento. Se realizó una segunda evaluación postratamiento, 120 días después, para evaluar el efecto residual del norgestrel. Los resultados indicaron que ambos esteroides inducen la masculinización en un 100%, difiriendo con el grupo control, en donde se registró el 95.4% de hembras; norgestrel no causó daño en los peces tratados, ya que sobrevivieron entre 80 y 84.4% por 80% del grupo control, el 19-NAD registró entre 68.8 y 71.1%. El crecimiento indicó que las hembras del grupo control tuvieron una mayor talla, altura y peso. El efecto residual del norgestrel provocó una menor sobrevivencia, entre el 52.6 y 58.3%, una disminución del porcentaje de masculinización hasta valores entre 65 y 76.2%, además de la aparición de hembras e intersexuales en peces que durante la primera evaluación eran machos. Se concluye, a pesar de lo anterior, que el mejor andrógeno es norgestrel a la dosis de 30 mg/kg.

Palabras claves: esteroide, andrógeno, norgestrel, androstenediona, *Xiphophorus helleri*, proporción de sexos, crecimiento y sobrevivencia.

ABSTRACT

The masculinization efficiency of the steroids norgestrel and androstenedione (19-NAD) on 5 day old *Xiphophorus helleri* juveniles was analyzed. Fish were treated at doses of 30 and 50 mg of steroid per kg of food, during 60 days period. After 120 days a second analysis was carried out in order to evaluate steroid residual effect on the fishes. Results indicated a 100% masculinized in induced by both steroids, as compared to the control group, which showed a 95.4% of females population. A survival factor in the range 80 - 84.4%, indicated that norgestrel had no apparent damage on the fish. Survival in the control group was 80% and 68.8 - 71.1% for those fish receiving 19-NAD treatment. Growth measurements indicated that control females had a largest body and were weightiest that the treated organisms. Norgestrel residual effect diminished the survival factor to 52.6 - 58.3% and the masculinization percentage to range 65 - 76.2%, and favored the presence of females and intersex organisms which were males in the first phase. It is concluded, in spite of this norgestrel shows better androgenic activity at 30 mg per kg of food.

Key words: steroid, androgen, norgestrel, androstenedione, *Xiphophorus helleri*, sex ratio, growth and survival.

INTRODUCCIÓN

La facilidad de su manejo, mantenimiento y reproducción en el laboratorio, así como la presencia de un marcado dimorfismo sexual y el tener un ciclo biológico corto, hacen que los peces de la familia *Poeciliidae* sean ampliamente utilizados como sujetos de experimentación para analizar los mecanismos relacionados con la determinación del sexo (Hunter y Donaldson, 1983). Sin embargo, la información disponible relacionada con la manipulación del sexo del pez cola de espada (*Xiphophorus helleri*) es escasa, a pesar de ser una especie autóctona de amplia distribución en el país (Dawes, 1991), además de ser uno de los peces de ornato más ampliamente cultivado en las granjas piscícolas del estado de Morelos (SEMARNAP, 1996).

La producción comercial de los poecílicos, en general, en espacios controlados ha permitido la creación de empresas cuyas ganancias ascienden a varios millones de dólares anuales (Fernando y Phang, 1985; Lim *et al.*, 1992; Bassleer, 1994), siendo la especie en cuestión, una de las más destacadas.

Las características secundarias del organismo se encuentran ligadas 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 cultivados (Yamazaki, 1983). Estas particularidades en *X. helleri* determinan su valor en el mercado, ya que sólo los machos desarrollan la aleta caudal en forma de espada y su cuerpo presenta una coloración más intensa, características que les permiten alcanzar un mayor valor comercial en el mercado, en comparación a las hembras, cuyo cuerpo es más robusto y opaco (Dawes, 1991; Lim *et al.*, 1992). Por las razones anteriores una estrategia de producción sería la de producir poblaciones monosexuales de machos.

La inducción del sexo, la maduración y el crecimiento estimulados con esteroides, se aplicó originalmente en especies comestibles, pero en la actualidad se aplican en mayor escala a peces de ornato (Pandian y Sheela, 1995).

Los antecedentes de masculinización de *X. helleri* son escasos, Jessy y Varghese (1987) analizaron la eficiencia de la hormona 17 α metiltestosterona, aplicando dosis de 80, 100, 120 y 140 mg/kg de alimento, obteniendo eficiencias del 80%, 86.9%, 87.5% y 91.3% de machos, respectivamente. Lim *et al.*; (1992) analizaron la eficiencia del mismo esteroide en juveniles de tres semanas de edad, aplicando tratamientos de corta duración (10 días), a dosis de 50, 100, 200, 300, 500 y 750 mg/kg de pez, obteniendo hasta el 100% de masculinización con las dos últimas dosis citadas.

El único registro de la androstenediona (19-NAD) empleado como andrógeno, es el de Kavumpurath y Pandian (1993), quienes alimentaron hembras grávidas de *Poecilia reticulata* con dosis de 100 a 400 mg/kg de alimento, obteniendo el 100% de masculinización en la progenie. Con respecto a norgestrel no se tiene reportado ningún antecedente, evaluaciones previas a nivel piloto, indicaron una alta capacidad androgénica.

En la presente investigación se evaluó la eficiencia como masculinizante de los esteroides androstenediona (19-NAD) y norgestrel en la especie *Xiphophorus helleri*, en condiciones de laboratorio

MATERIALES Y MÉTODOS

La evaluación se realizó en dos fases, en la primera el objetivo fue evaluar la eficiencia masculinizante de los esteroides a los 60 días, estimada por la proporción de machos, la sobrevivencia y el crecimiento. La segunda fase implicó seleccionar al esteroide más eficiente, con el objetivo de determinar su efecto residual, 120 días después.

Material biológico. Los juveniles de *X. helleri*, variedad roja, se obtuvieron en condiciones de laboratorio, de dos hembras cuyos juveniles nacieron con diferencia de un día de edad, posteriormente se mantuvieron por un lapso de 5 días, en acuarios de 40 l. Se mantuvo constante la temperatura en 25 ± 1 °C, la concentración de oxígeno a 6.86 ± 0.05 mg O₂/l y el pH a 8.5 ± 0.5 . Diariamente se les suministró a los peces alimento comercial en hojuelas pulverizadas, Wardley® (con un mínimo de 40 % de proteína cruda y 4% de grasa).

Preparación del alimento: Se utilizaron los esteroides androstenediona (19-NAD) y norgestrel en dos concentraciones: a 30 y 50 mg/kg de alimento, los cuales fueron incorporados al alimento comercial por el método de evaporación de alcohol, descrito por Guerrero (1975). La preparación del alimento del grupo control se realizó con el mismo procedimiento (incluyendo el alcohol), pero sin el esteroide.

Tratamientos: Los juveniles de 5 días de edad se sometieron durante 60 días a cinco tratamientos: Control, NOR30, NOR50, 19-NAD30 y 19-NAD50, cada uno con tres replicas (5 x 3 = 15 unidades experimentales). Con el fin de minimizar los factores de confusión los juveniles se mezclaron y se distribuyeron al azar (Méndez *et al.*, 1988), correspondiendo a 15 por acuario y a 45 por tratamiento. Diariamente, los peces se alimentaron a saciedad y se registraron en cada acuario los parámetros físicoquímicos previamente descritos.

Evaluación de sexos: A partir de identificar el gonopodio y la "espada", se determinó el sexo de los peces sobrevivientes en machos, hembras e intersexuales (George y Pandian, 1995) al final de la aplicación de los esteroides y a la finalización del experimento, 120 días después. La eficiencia de la masculinización se estimó contrastando la proporción de machos por tratamiento con respecto al grupo control.

Evaluaciones morfométricas: Se realizaron dos estimaciones, a los 60 días y a los 180 días el efecto residual, estimándose como indicadores del crecimiento: la longitud patrón, la longitud de la aleta caudal (espada), la altura y el peso. Las mediciones de los organismos se realizaron con un calibrador (Scala; ± 0.001 cm), el peso se obtuvo con una balanza digital (Mettler; ± 0.001 g). Para facilitar las mediciones y disminuir el estrés por la manipulación, los peces fueron anestesiados con benzocaína al 10%.

Análisis estadístico: Se utilizó la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de las varianzas de los indicadores del crecimiento ($p < 0.05$), de resultar significativa, se realizó una transformación logarítmica de los indicadores (Zar, 1974). Posteriormente se aplicó el análisis de varianza (ANDEVA) de un factor (tratamiento), de resultar significativo ($p < 0.05$), se procedió a determinar entre que parejas de tratamientos por la prueba de Tukey (Montgomery, 1984). Finalmente se probaron tres contrastes, bajo las siguientes consideraciones:

Contraste	Hipótesis nula
$\Psi_1: \mu_1 = \mu_2 + \mu_3 + \mu_4 + \mu_5$	El crecimiento de los peces del testigo es igual al de los peces tratados.
$\Psi_2: \mu_2 + \mu_3 = \mu_4 + \mu_5$	El crecimiento de los peces tratados con norgestrel es igual al de los peces tratados con androstenediona.
$\Psi_3: \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$	El crecimiento de los peces tratados con 30 mg/kg es igual al de los peces tratados con 50 mg/kg.

RESULTADOS

Primera fase

Al inicio del experimento los juveniles de 5 días de edad presentaron una longitud patrón de 0.69 ± 0.03 cm y un peso de 0.011 ± 0.002 g, después de 6 días de tratamiento en los peces tratados con norgestrel, se inició

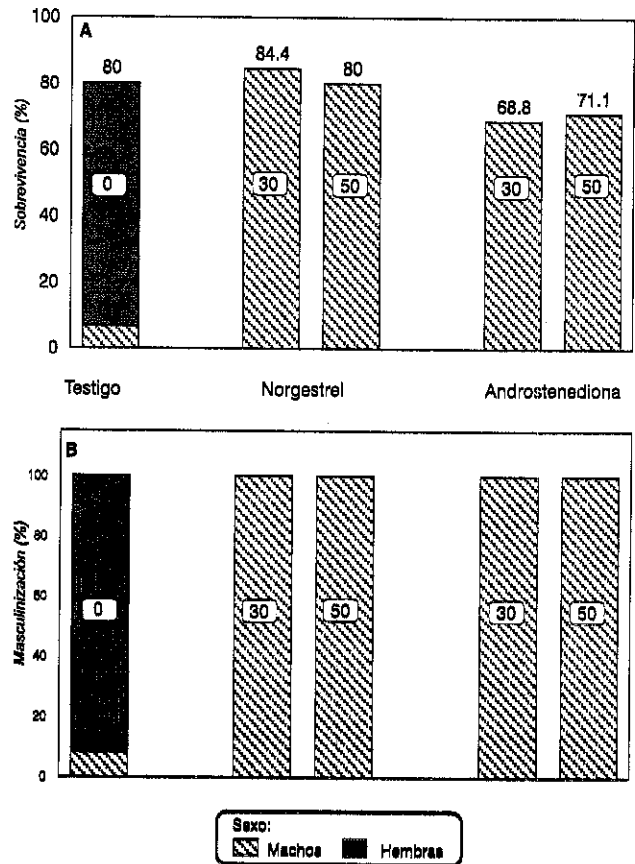


Figura 1. Eficacia de los esteroides en la sobrevivencia (A) y en el porcentaje de masculinización (B) en *Xiphophorus helleri* ($n = 45$). En el recuadro interno de cada barra aparece la dosis en mg/kg de alimento.

la diferenciación sexual, al observarse que la zona inferior de la aleta anal de los peces se opacaba, dando inicio la formación del gonopodio.

Sobrevivencia

Finalizado el período de experimentación, los resultados indicaron que la mayor sobrevivencia la presentaron los peces tratados con norgestrel, principalmente con la dosis de 30 mg/kg, por el contrario, la mayor mortalidad la presentaron los peces tratados con 19-NAD en la dosis de 30 mg/kg. El grupo control registró una sobrevivencia acumulada, para ambos sexos, del 80%, correspondiendo el 6.6% a los machos y el resto a las hembras, como se aprecia en la figura 1 (A).

Proporción de sexos

La aplicación de los esteroides a *X. helleri* indicó que ambos son muy eficientes como masculinizantes, ya que se registró el 100% de machos en cualquiera de las dosis,

Tabla 1. Indicadores del crecimiento al finalizar la aplicación de los tratamientos (60 días) en juveniles de *Xiphophorus helleri* en condiciones de laboratorio (media \pm desviación estándar).

Tratamiento	Dosis (mg/k) de alimento	Núm. de organismos por sexo (n)		Longitud patrón (cm)	Altura (cm)	Peso (g)
		♀	♂			
Testigo	0	33	3	1.62 \pm 0.30	0.49 \pm 0.10	0.121 \pm 0.06
	0			1.29 \pm 0.22	0.36 \pm 0.08	0.051 \pm 0.02
Norgestrel	30	38		1.53 \pm 0.26	0.41 \pm 0.08	0.080 \pm 0.04
	50	36		1.45 \pm 0.19	0.35 \pm 0.05	0.062 \pm 0.03
Androstenediona	30	31		1.33 \pm 0.11	0.40 \pm 0.09	0.065 \pm 0.02
	50	32		1.44 \pm 0.23	0.36 \pm 0.07	0.082 \pm 0.04

contrastando con el grupo control, en donde el 95.4% son hembras y el 4.6% restante corresponde a los machos, como se aprecia en la figura 1 (B).

Indicadores del crecimiento

La descripción de los indicadores se muestra en la tabla 1, en donde se aprecia que la mayor talla, altura y peso la presentaron las hembras del grupo control y por el contrario, los machos del mismo grupo fueron los peces mas pequeños, a excepción de la altura.

Analizando únicamente los peces tratados, se estimó que las mayores tallas correspondieron al bloque tratado con norgestrel, principalmente a una dosis de 30 mg/kg; por el contrario, los tratados en ambas dosis con 19-NAD presentaron las tallas mas pequeñas y los mayores pesos en proporción, sobre todo a la dosis de 50 mg/kg, es decir, los peces crecieron con tallas pequeñas pero con cuerpos corpulentos.

Los indicadores del crecimiento de los peces masculinizados fueron superiores a los estimados para los machos del grupo control, mientras que los estimados para las hembras de este último grupo, fueron superiores a cualquiera de los peces tratados.

En la estimación de la discrepancia entre los tratamientos, se excluyeron los datos correspondientes a los machos del testigo, por tener únicamente 3 casos, ya que proporcionaba mas confusión que explicación. El ANDEVA indicó diferencias significativas del efecto de los esteroides en la talla, la altura y el peso de los peces ($p < 0.001$), la prueba de Tukey indicó que las diferencias en la talla fueron entre las hembras del grupo control y los machos de ambas concentraciones del 19-NAD ($p < 0.03$), además de los machos de las concentraciones de 30 mg/

kg de norgestrel y 19-NAD ($p < 0.05$). Para la altura y el peso, la misma prueba indicó que las diferencias significativas fueron únicamente entre las hembras del grupo control y los machos de todos los tratamientos ($p < 0.02$).

Con respecto al contraste ψ_1 , el análisis indicó que la talla, la altura y el peso de las hembras del grupo control es distinta al de los peces tratados ($p < 0.001$).

El contraste ψ_2 indicó diferencias significativas en la talla de los peces tratados con norgestrel y 19-NAD ($p < 0.03$).

El contraste ψ_3 indicó diferencias significativas en la altura de los peces tratados con 30 mg/kg difiere significativamente al de los peces tratados con 50 mg/kg ($p < 0.03$).

Los resultados indicaron que ambos esteroides son andrógenos muy eficientes, pero norgestrel registró una mayor sobrevivencia y tallas mas grandes, que desde el punto de vista comercial es deseable.

Segunda fase

Seleccionado norgestrel, se procedió a evaluar 120 días después el efecto que ocasionó que los peces no continuaran con los tratamientos. Tomando como punto de referencia el número de organismos por dosis al finalizar la primera fase. Los indicadores del crecimiento se muestran en la tabla 2.

Sobrevivencia

La mayor sobrevivencia acumulada se registró en el grupo control, por el contrario ambos tratamientos con norgestrel tuvieron una sensible mortalidad, principalmente la dosis de 30 mg/kg, que tuvo una sobrevivencia acumulada

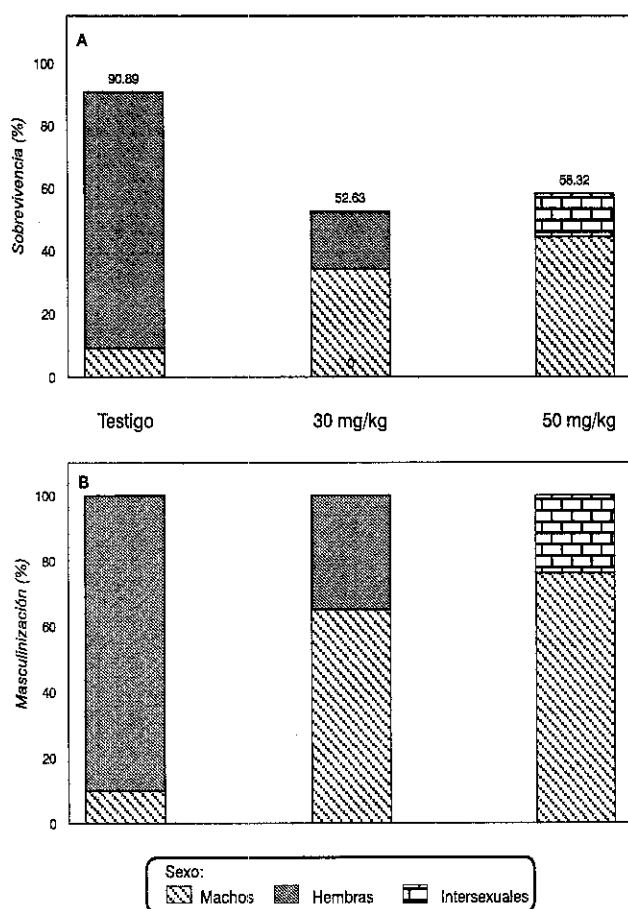


Figura 2. Efecto residual del norgestrel en la sobrevivencia (A) y en el porcentaje de masculinización (B) en *Xiphophorus helleri* (n=peces sobrevivientes al finalizar la aplicación del esteroide a los 60 días).

del 52.6%, correspondiente a 34.2% a los machos y un 18.4% a las hembras; mientras que la dosis de 50 mg/kg tuvo una sobrevivencia acumulada del 58.3%, correspondiente a 44.4% a los machos y un 13.9% a peces intersexuales, como se observa en la figura 2 (A).

Proporción de sexos

La distribución de los sexos tuvo un cambio significativo en ambos tratamientos de norgestrel, quien finalizó la primera fase con el 100% de masculinización, ya que la dosis de 30 mg/kg registró un 35% de hembras, mientras que la de 50 mg/kg tuvo un 23.8% de peces intersexuales. El grupo control conservó aproximadamente la misma proporción de sexos, como se aprecia en la figura 2 (B).

Indicadores del crecimiento

La descripción de los indicadores se muestra en la tabla 2, en donde se aprecia que la mayor talla y peso la

presentaron las hembras del tratamiento de 30 mg/kg, siguiendo en ese orden, los peces intersexuales de la dosis de 50 mg/kg; las estimaciones del resto de los tratamientos son similares, incluyendo a las hembras del grupo control.

Para el análisis de varianza se excluyeron los datos de los machos del grupo control, por las mismas razones que se expusieron en la primera fase. El ANDEVA indicó diferencias significativas del efecto residual en la talla y el peso de los peces ($p < 0.001$), pero no en el tamaño de la aleta caudal (espada) de los machos ($p > 0.05$).

La prueba de Tukey indicó que las hembras de 30 mg/kg e intersexuales de 50 mg/kg difieren significativamente en talla y peso con las hembras del grupo control y los machos de 30 y 50 mg/kg ($p < 0.001$). En la tabla 2, se observa que los indicadores de las hembras del grupo control son similares a la de los machos de 30 y 50 mg/kg.

DISCUSIÓN

Los efectos de la aplicación de los esteroides como inductores del sexo, podrían ser evaluados con precisión si son considerados en forma integral, aspectos como: el inicio de la diferenciación sexual fenotípica, la sobrevivencia, la talla, el peso y el crecimiento de los organismos, entre otros. Sin embargo la revisión bibliográfica al respecto es escasa, probablemente exista, pero tal vez no sea reportada porque tiene implicaciones comerciales, principalmente en la industria de los peces de ornato.

En el sentido anterior, la eficiencia de los andrógenos empleados en el presente estudio, se manifestó al masculinizar al 100% de los peces tratados y su potencia como inductores del sexo, se manifestó a partir del inicio de la diferenciación sexual fenotípica, indicada por el opacamiento característico de la aleta anal al transformarse en gonopodio (Dawes, 1994), ya que los juveniles tratados con norgestrel iniciaron el desarrollo del gonopodio a los 6 días de tratamiento, mientras los tratados con 19-NAD a los 11 y los machos del grupo control alrededor del día 45. Lo anterior significa que los andrógenos aceleraron la aparición de caracteres sexuales secundarios.

Lo anterior tiene importancia práctica, si se considera que la proporción de hembras del grupo control fue del 95.4% y coincide con los porcentajes estimados en estanques comerciales en forma natural (Velasco, 1997).

La mayor sobrevivencia de norgestrel al término de su aplicación, indicó que no es nocivo para *X. helleri*, ya que el daño que podría haber causado es mínimo, si se considera

Tabla 2. Efecto residual del norgestrel en los indicadores del crecimiento de *Xiphophorus helleri* en condiciones de laboratorio, 120 días después de concluir el tratamiento (media \pm desviación estándar).

Tratamiento	Sexo	Número de organismos	Long. patrón (cm)	Altura (cm)	Peso (g)	Espada (cm)
Testigo	♀	27	3.30 \pm 0.22	1.00 \pm 0.09	0.98 \pm 0.22	-
	♂	3	3.20 \pm 0.20	0.90 \pm 0.0	0.76 \pm 0.13	2.56 \pm 0.15
30 mg/kg	♀	7	4.49 \pm 0.48	1.44 \pm 0.19	2.00 \pm 0.98	-
	♂	13	3.23 \pm 0.36	0.68 \pm 0.08	0.73 \pm 0.15	2.78 \pm 0.47
50 mg/kg	♀	16	3.27 \pm 0.45	0.68 \pm 0.14	0.73 \pm 0.18	2.56 \pm 0.56
	♀/♂ *	5	4.30 \pm 0.10	1.21 \pm 0.05	1.81 \pm 0.29	-

* Peces intersexuales: presentan el abdomen dilatado característico de las hembras, no desarrollaron completamente la aleta anal y presentaron una espada incipiente.

que las dos dosis utilizadas tuvieron una sobrevivencia igual o mayor a los valores registrados en el grupo control. Los peces tratados con 19-NAD registraron una menor sobrevivencia (figura 1A), que puede ser respuesta a los trastornos fisiológicos, ocasionados por los cambios en las concentraciones de las hormonas sexuales (Hunter y Donaldson, 1983).

Como se esperaba a la finalización de la primera fase, la talla y el peso de las hembras del grupo control fue mayor que la de los machos, con y sin esteroide. Sin embargo los indicadores del crecimiento de los peces tratados fueron superiores a los machos del grupo control, probablemente debido a que los andrógenos también tengan actividad anabólica (Avila *et al.*, 1990).

Los estudios sobre inductores de la reversión sexual en poecílidos, tienen como principal sujeto de experimentación a *Poecilia reticulata*, sobre el cual se han empleado con eficiencia la 17 α -metiltestosterona (MT) (Clemens *et al.*, 1966; Takahashi, 1975), 19-nor-etiniltetosterona, 17- β -etiniltetosterona, 9 (11)-dimiltetosterona y la androstenediona (19 NAD) (Kavumpurath y Pandlan, 1993), demostrándose que el 19 NAD es un andrógeno natural muy eficiente, ya que promovió el 100% de masculinización en dosis entre 200 y 400 mg/kg de alimento.

Los resultados del presente estudio fueron superiores a los reportados por Jessy y Varghese, (1987), quienes experimentaron con juveniles de *X. helleri* y obtuvieron una eficiencia máxima de masculinización del 91.3%, utilizando MT a dosis de 140 mg/kg de alimento; una observación en la que se coincidió es que el esteroide acentuó el color de los peces tratados.

Un segundo contraste de los resultados, es con respecto a los obtenidos por Lim *et al.*, (1992), quienes trataron a juveniles de la misma especie de 3 semanas de edad, con el mismo esteroide. La consideración más interesante es que el tratamiento fue aplicado en el transcurso de 10 días y la eficiencia del 100% de masculinización, se obtuvo a dosis de entre 500 y 750 mg/kg de pez. Los resultados del presente indicaron que el mejor tratamiento fue con norgestrel a dosis de 30 mg/kg de alimento, durante 60 días, es decir, el tratamiento fue de larga duración, pero la dosis fue pequeña. El hecho de que los autores citados no proporcionan en su reporte los datos de sobrevivencia o crecimiento, impiden saber si las altas dosis utilizadas afectaron la sobrevivencia, ya que se puede lograr porcentajes del 100% de machos, pero tal vez los porcentajes de sobrevivencia sean bajos o bien podría ser que los peces tratados fueran enanos; entonces cabría preguntar si el objetivo práctico de esa inducción del sexo es viable.

Los factores que determinan el uso de hormonas para inducir un sexo con fines comerciales, debe estar basados en el conocimiento de los factores que determinan su éxito, como es la selección del esteroide, su concentración, la forma de aplicación, la edad del pez y la duración del tratamiento (Cheng-Sheng *et al.*, 1992; George y Pandlan, 1995). Faltando por considerar los efectos colaterales o residuales de la aplicación del esteroide.

En el presente estudio, el efecto residual de norgestrel se reflejó en los cambios del sexo, ya que los resultados indicaron que el sexo masculino obtenido a los 60 días no se "fijó", como lo indica la transformación de machos a

hembras en la dosis de 30 mg/kg y de intersexuales a 50 mg/kg, al finalizar el experimento; cambiando los porcentajes de la sobrevivencia, la proporción de sexos y en los indicadores del crecimiento. Un aspecto interesante es que estos machos feminizados crecieron muy similar ($p < 0.001$) y más que los peces del resto de los tratamientos, incluidos las hembras del grupo control.

CONCLUSIONES

Los esteroides norgestrel y androstenediona son eficientes masculinizantes de *Xiphophorus helleri*.

Norgestrel a una dosis de 30 mg/kg de alimento fue el mejor tratamiento.

El efecto residual de la aplicación del norgestrel a dosis de 30 y 50 mg/kg de alimento, durante 60 días, indicó que el efecto masculinizante no es permanente en la totalidad de los peces tratados.

LITERATURA CITADA

- AVILA, G., SHIMADA, S. y L. LLAMAS, 1990. *Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria*. Sistema de educación continua en producción animal en México A.C. México. 214 p.
- BASSLEER, G., 1994. The international trade in aquarium ornamental fish. *Infofish international. Germany* 5: 1-17.
- CHENG-SHENG, L., TAMARU, C., KELLEY, C., MIYAMOTO, G. y A. MORIWAKE, 1992. The minimum effective dosage of 17 α -methyltestosterone for induction of testicular maturation in striped mullet, *Mugil cephalus* L. *Aquaculture* 104: 183-191.
- CLEMENS, P., McDERMITT, C. y T. INSLIEE, 1966. The effects of feeding methyl testosterone to guppies for sixty days after birth. *Copeia* 2: 280-284.
- DAWES, J., 1991. *Livebearing fishes*. Blandorf, England. 239 p.
- FERNANDO, A. y V. PHANG, 1985. Culture of the guppy, *Poecilia reticulata* in Singapore. *Aquaculture* 51: 49-63.
- 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.
- GUERRERO, R., 1975. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Transactions of the American Fisheries Society* 2: 342-348.
- HUNTER, G. y E. DONALDSON, 1983. Hormonal sex control and it's application to fish culture. pp. 223-304. En: W. S. HOAR y E. M. DONALDSON (Comps.). *Fish Physiology, Reproduction*, Academic Press, New York.
- JESSY, D. y J. VARGHESE, 1987. Hormonal sex control in *Betta splendens* Regan and *Xiphophorus helleri* Heckel. pp. 123-124. En: M. JOSEPH (Comp.). *Indian Fisheries Forum*. India.
- 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.
- LIM, B., PHANG, V. y P. REDDY, 1992. The effects of shorts-term treatment of 17 α -methyltestosterone and 17 β - estradiol on growth and sex ratio in the red variety of swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Journal of Aquaculture Tropical* 7: 267-274.
- MÉNDEZ, R., G. NAMIHIRA, A. MORENO y M. SOSA, 1988. *El protocolo de investigación. Lineamiento para su elaboración y análisis*. Trillas. México. 95 p.
- MONTGOMERY, D., 1984. *Design and analysis of experimental*. 2da. Ed. William and Sons. Inc. New York. 538 p.
- PANDIAN, T. y S. SHEELA, 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture* 138: 1-22.
- SEMARNAP, 1996. Directorio Nacional de Acuicultura. México. 109 p.
- TAKAHASHI, H., 1975. Masculinization of the gonad of juvenile guppy, *Poecilia reticulata*, induced by 11-ketotestosterone. *Bulletin of Faculty Fisheries Hokkaido University* 26(1): 11-22.
- 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. U. A. M. Xoch. México. 47 p.
- YAMAZAKI, F., 1983. Sex control and manipulation in fish. *Aquaculture* 33: 329-354.
- ZAR, J., 1974. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall Inc. New Jersey. 620 p.

Recibido: 10 de febrero de 1998.

Aceptado: 20 de octubre de 1998.