

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALÁ

*"Efecto de la administración oral de la hormona 17 α -metiltestosterona en gónadas de crías de
Xiphophorus helleri (pez cola de espada)."*

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TÍTULO DE

B I O L O G O

PRESENTA:

CECILIA SANTOS VELÁZQUEZ

Dir. Biol. Benítez Flores José del Carmen

México, 2002.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



U.N.A.M. CAMPUS

DEDICATORIA

IZT.

“Este trabajo al igual que mi Título profesional lo dedico a mis padres Arturo Santos Jiménez y Maria de Jesús Velázquez González quienes con sus esfuerzos y sacrificios siempre han sido un gran ejemplo y apoyo para mi desarrollo como persona.”

Muchas gracias, los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi esposo por el cariño, la comprensión y el amor que siempre me ha brindado para poder siempre alcanzar mis metas.

A mis hermanos Arturo, Michael, Christopher y Nancy por haber estado conmigo desde siempre y porque se que cuento con todo su apoyo.

A la profesora Alba Márquez por el gran entusiasmo que siempre mostró durante la elaboración de este trabajo y por nunca perder la fe de que saldría bien.

Al profesor José del Carmen Benítez por haber aceptado dirigir el trabajo y por la gran paciencia que me tuvo.

A los profesores Asela Rodríguez, Adolfo Cruz y Héctor Barrera por los comentarios oportunos que me sirvieron para el enriquecimiento y la elaboración de este trabajo.

A todos ustedes muchas gracias.

INDICE

Introducción.....	1
Antecedentes.....	11
Justificación.....	17
Objetivos.....	20
Metodología.....	21
Resultados, análisis y discusión.....	24
Conclusiones.....	44
Apéndice 1.....	45
Apéndice 2.....	47
Bibliografía.....	48

INTRODUCCION

Las técnicas de mantenimiento, crecimiento y reproducción de los peces (acuacultura) han cobrado importancia en los últimos años y se ha pasado de técnicas con las cuales sólo se mantenían a las especies el tiempo necesario para su comercialización, a otras en las que se aplica el control de los factores ambientales, el manejo del ciclo de crecimiento, reproductivo y más recientemente la aplicación de sustancias como las hormonas por ejemplo, que promueven el crecimiento o la reproducción de las especies (Cárdenas, 1996).

La acuacultura en algunos países se encuentra todavía en fase experimental, mientras que en otros ha alcanzado niveles superdesarrollados, sin embargo en México, la acuacultura se encuentra considerablemente desarrollada en algunos aspectos al haber alcanzado niveles comerciales (trucha arco iris, carpa, tilapia, langostino, ostión), mientras que en otros (pescado blanco, mojarras nativas, mejillón) se encuentra en fase experimental (Aguilera, 1994).

El Programa Nacional para la Modernización de la Acuacultura impulsó en México a principios de la década de los años noventa esta actividad, ofreciendo excelentes oportunidades para todos los sectores de la sociedad mexicana. La integración de la acuacultura, especialmente para los sectores sociales, como actividad paralela con la agricultura o ganadería se ha impulsado fuertemente como un instrumento para regular el desequilibrio en el desarrollo económico regional. Para otros sectores, esta actividad ha implicado una alternativa económica a nivel comercial. Es importante

resaltar el hecho de que los organismos acuáticos son más eficientes en términos de aprovechamiento energético en relación a los organismos terrestres como las vacas, cerdos y aves. Por lo tanto la acuicultura representa un potencial para la producción de alimento de alto valor nutricional a relativo bajo costo (Aguilera, 1994).

En nuestro país se le ha dado cada vez mayor importancia a los peces de ornato por lo cual su cultivo se ha incrementado utilizando diferentes estrategias para lograr nuevas y mejores variedades, en muchos de los casos obteniendo poblaciones monosexo mediante la administración de hormonas (Fuentes, 1994).

Los avances científicos han permitido ampliar el conocimiento sobre las especies acuáticas, además muchos de esos organismos en la actualidad son utilizados en la experimentación debido a la gran facilidad de manejo y mantenimiento que poseen.

El interés por los peces puede dividirse en dos distintas tendencias: como alimento y para ornato. El mantenimiento de peces tuvo su origen como forma de disponer de alimento vivo en estanques o fosos. Los antiguos egipcios fueron los primeros en utilizar acuarios, que eran grandes tanques de cristal con peces de agua fría para fines decorativos. Sin embargo, el mantenimiento de peces ornamentales tuvo su origen en el lejano Oriente. La cría selectiva de estirpes de peces de color se inicia en China y el cultivo de carpas doradas se practicaba en la dinastía Sung (970-1278 d.C.). En el siglo XVI las técnicas de mantenimiento de peces en recipientes de cristal

se extendieron por Europa y para el siglo XIX gracias a los avances de la ciencia se inauguraron los primeros acuarios públicos (Chaumeton, 1991). Desde un punto de vista general casi todas las culturas antiguas de la América Prehispánica tienen alguna referencia piscícola ya sea ornamental o alimenticia (Aguirre, 1995).

En el año de 1840 el gobierno del imperio Austro-Húngaro mandó al botánico Carlos Heller a México, con la misión de recolectar diversos ejemplares vegetales para el jardín botánico de Viena. En su viaje a través del estado de Veracruz, Heller colectó unos peces desconocidos en Europa y se los mandó al Dr. Jacob Heckel (encargado en Europa de la clasificación y nomenclatura de peces). El Dr. Heckel denominó a estos curiosos peces *Xiphophorus helleri*, lo que quiere decir portador de la Espada de Heller. Así México, casi sin saber aportaba a la afición del mundo un pez que actualmente es un clásico de la acuariofilia y que además se cría en todo el mundo. Algunos años más tarde, otro enviado del exterior, Seth E. Meek del Museo de Historia Natural de Chicago, realizó una expedición por territorio mexicano y describe nuevas variedades de peces. Sus reportajes y algunas fotos publicadas en Europa causan tal revuelo que los comerciantes de peces de aquellos lugares comisionaban a los marinos que salían de Hamburgo y Bremen para obtener a su regreso dotaciones de peces mexicanos (Chaumeton, 1991).

México además de poseer una enorme variedad de especies en ecosistemas terrestres también se caracteriza por su especies acuáticas, la distribución de la especie *Xiphophorus helleri* abarca los ríos Nautlá, Antigua, Chachalacas y Jamapa. Esta especie tiene una amplia distribución

en la Vertiente del Atlántico desde Veracruz hasta Centroamérica, fue introducido artificialmente a la Cuenca del Balsas y al Valle de México (Álvarez, 1970).

Esta especie es muy apreciada como pez de acuario por su elevada resistencia a las variaciones del medio y capacidad de supervivencia en ambientes poco adecuados (Márquez, 1999).

Los organismos de la especie *Xiphophorus helleri* presentan una coloración verdusca con una franja anaranjada en la parte de la línea lateral, los machos además de la coloración presentan una prolongación del lóbulo inferior de la aleta caudal a manera de espada (Fig. 2) de ahí su nombre común, peces cola de espada.

El dimorfismo sexual se clasifica como primario y secundario. Las características sexuales primarias son los testículos y sus conductos en el macho y los ovarios y sus conductos en las hembras, dichas características a menudo requieren de disección para ser distinguidas, por lo que muchas veces los caracteres sexuales secundarios se vuelven de más utilidad, por ejemplo, un carácter que distingue a los machos de *Xiphophorus helleri* por ser una especie de peces vivíparos, es la fusión de la aleta anal de manera alargada formando un órgano intromitente de gran utilidad para la cópula. Sin duda, también la coloración de estos peces constituye una característica para la distinción y el reconocimiento sexual, por lo general los machos presentan colores más brillantes o intensos que las hembras (Lagler, 1984).

La mayoría de los organismos requieren de la presencia de las gónadas para llevar a cabo el proceso de reproducción con el cual completan su ciclo de vida y ayudan a preservar sus características a través del tiempo, por lo que estas pueden ser consideradas como su reservorio genético.

Los órganos reproductores de *Xiphophorus helleri* en estado embrionario no presentan evidencias de dimorfismo sexual, pero en los primeros días después del nacimiento se observan como un par de sacos alargados orientados en sentido longitudinal y adosado a la parte dorsal de la cavidad general. Cuando los órganos sexuales están totalmente maduros ocupan la totalidad de la cavidad general y empujan al hígado hacia la parte anterior dilatando considerablemente la pared del abdomen (Tavolga, 1949).

Las gónadas de estos peces se originan en la línea media dorsal de la cavidad peritoneal, una gónada a cada lado del mesenterio dorsal, su desarrollo está íntimamente asociado con el sistema excretor. Las células que originan a los gametos son las células germinales primordiales, aparecen primero y migran hacia el interior de la gónada, estas pueden ser fácilmente identificadas en la capa de proliferación del mesotelio (epitelio germinativo). En condiciones normales los factores genéticos determinan el desarrollo de machos o hembras (Márquez, 1999).

El testículo es usualmente un órgano elongado pareado localizado en la parte ventral de la cavidad del cuerpo y prolongado hacia la parte posterior hasta la papila urogenital la cual se localiza entre el recto y los ductos urinarios. Existen dos tipos de organización testicular, la lobular y la tubular, en esta última las espermatogonias están restringidas a la parte distal del

túbulo, este tipo de organización testicular no presenta lumen y no es muy común. El otro tipo de organización más frecuentemente encontrado es básicamente diferenciado por presentar una serie de lóbulos separados por tejido conectivo fibroso, presentan una parte lobular y una intersticial, la primera se compone de dos tipos celulares las células germinales y las células de Sertoli, la segunda comprendida por células intersticiales, fibroblastos y vasos sanguíneos y linfáticos. Las espermatogonias se localizan en la parte basal y están separadas de la membrana basal por una capa delgada de células homólogas a las de Sertoli, por último, los espermatozoides son liberados en el lumen central (Billard, 1982).

El ovario es un saco cerrado con sus conductos (oviductos) el cual puede funcionar como un *órgano complejo con funciones tales como producción de ovocitos, almacenaje de espermatozoides, lugar de fertilización y de alimentación para el desarrollo del embrión*. Al igual que los testículos, los ovarios de estos peces se encuentran en la parte ventral de la cavidad del cuerpo y los gametos son formados por las células germinales primordiales. El folículo ovárico es relativamente simple, en fases tempranas del desarrollo los ovocitos están rodeados por una capa de células foliculares y a medida que crece, éstas incrementan y forman una capa continua unicelular llamada granulosa (Márquez, 1999).

En esta especie, la aleta anal del macho experimenta una curiosa transformación que le permite actuar como un verdadero órgano de cópula entre el macho y la hembra en el momento de la fecundación que en esta especie es interna, cuando la hembra ha sido fecundada, expulsa al cabo

de unos 30 días de 10 a 30 diminutos pececillos que crecen con rapidez (Márquez, 1999).

La modificación que presentan los machos en la aleta anal, es característica de las especies de fecundación interna, donde el macho con ayuda de esta estructura denominada gonopodio deposita la carga de espermatozoides en la hembra.

La época reproductiva de esta especie va a estar delimitada por los factores fisicoquímicos del agua como son luz, temperatura, cantidad de alimento disponible, etc., las temperaturas observadas para el nacimiento de las crías son variables según las diferentes especies, la más conveniente para el espada es de 24°C (Fuentes, 1998).

La importancia que tiene *Xiphophorus helleri* dentro de la acuicultura en México es muy grande, ya que es una especie muy apreciada dentro del acuarismo debido a la belleza de los machos principalmente, es por ello que la producción de este organismo debe estar dirigida hacia la obtención del mayor número posible de machos lo cual puede lograrse mediante la aplicación de técnicas de inducción o de reversión sexual.

Existen además otras ventajas de poder manipular el sexo de las poblaciones de peces en un sistema de producción, tales como la oportunidad de incrementar las tasas de productividad al establecer cantidades de venta superiores de los organismos con mayor demanda en el mercado, en este caso de los machos o aumentar las oportunidades de selección sexual en la población de peces ya que en poecílidos por ejemplo,

esta aumenta cuando la proporción sexual funcional se dirige hacia los machos (Jirotkul, 2000).

El sexo fenotípico en los peces es determinado primordialmente por los cromosomas sexuales pero también puede ser influenciado por factores ambientales como es el pH para algunos poecilidos, la densidad poblacional para *Macropodus opercularis*, o la talla relativa de los juveniles en el caso de *Amphilophus citrinellus*, sin embargo uno de los factores más importantes en la determinación sexual de los peces es la temperatura (Baras, 2000).

No obstante en los sistemas de producción, manipular el sexo de las poblaciones mediante el control de los factores ambientales puede ser muy poco rentable, además de tener un margen de confiabilidad relativamente pobre, por ello uno de los medios más seguros de tener poblaciones monosexo es la aplicación de las hormonas sexuales, ya que estas se encuentran de manera natural en el cerebro y glándulas (pituitaria) de los peces y pueden ser reguladas, sintetizadas y liberadas mediante la administración de esteroides sexuales externos (Collins, 2001).

Tradicionalmente la aplicación de andrógenos se utiliza para obtener poblaciones exclusivamente de machos, mientras que la aplicación de estrógenos resulta en poblaciones cien por ciento de hembras (Blázquez, 2001).

Los andrógenos son hormonas esteroides derivadas del ciclopentano-pehidrofenantreno y la hormona 17α - metiltestosterona es sintetizada a partir de la testosterona, cuya fórmula química es la siguiente:

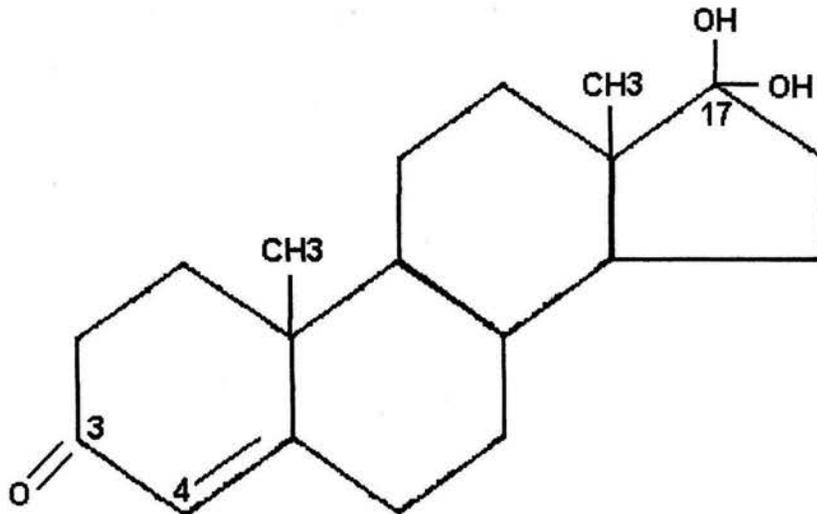


Fig. 1. Estructura química de la hormona 17α -metiltestosterona

Posición taxonómica de *Xiphophorus helleri*

Phylum	Chordata
Subphylum	Gnathostomata
Clase	Osteichthyes
Subclase	Actinopterygii
Orden	Cyprinodontiformes
Suborden	Cyprinodontoidei
Familia	Poeciliidae
Género	Xiphophorus
Especie	<i>Xiphophorus helleri</i> (Heckel, 1884)
Nombre común	Pez espada o Pez Cola de espada

Sistemática según Rosen, 1960, citado en Álvarez del Villar, 1970.

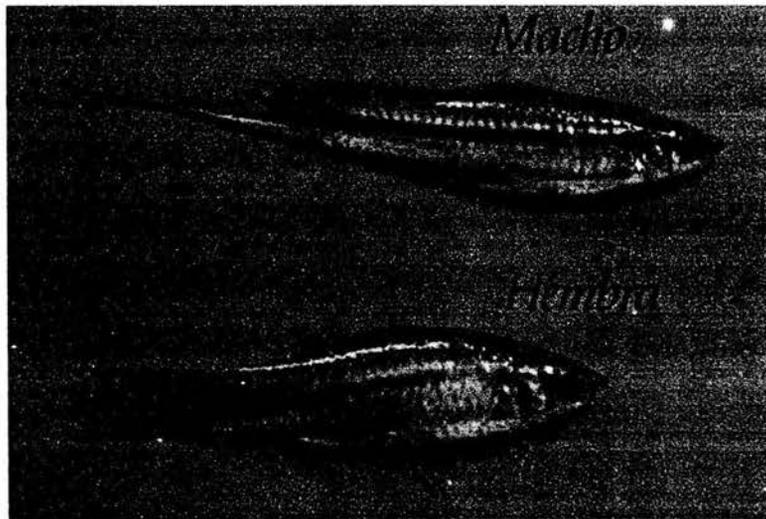


Fig. 2. Macho y Hembra adultos (1 año de edad) de *Xiphophorus helleri*. Aquí se aprecia perfectamente el dimorfismo sexual de esta especie, el macho con la prolongación de la aleta caudal en forma de espada (de donde se deriva su nombre común) y una coloración más intensa en las franjas dorsales mientras que la hembra presenta una coloración menos llamativa y la aleta caudal sin prolongación alguna (tomada por Alba Márquez E.).

ANTECEDENTES

Conociendo el efecto específico que tienen las hormonas sexuales en algunos peces podemos conocer más a fondo cómo es que se lleva a cabo el proceso de la reproducción.

Cochran (1992) realizó un estudio utilizando tres andrógenos, Testosterona, 11-cetotestosterona y 11 β -dihidroxitestosterona, aplicados a la especie *Fundulus heterociclus* con la finalidad de conocer qué tipo de intervención tienen en la espermatogénesis, encontrando que dichas hormonas intervienen en la producción de esteroides y en el aumento del volumen testicular.

Las hormonas tienen diferente efecto en los organismos, utilizando andrógenos sintéticos como 19-nor-etinilttestosterona (100-500mg/kg.), 17 α etinilttestosterona (100-500mg/kg.) y 9(H)-dimetilttestosterona en hembras grávidas de la especie *Poecilia reticulata*, se obtiene reversión sexual y por lo tanto una población consistente de machos, aunque en altas dosis se incrementa el índice de mortalidad (Soossama, 1993).

Ya-Xiong (1993) utilizó andrógenos logrando un gran cambio en las gónadas de hembras de *Menopterus albus*, encontrando que las gónadas contenían tejido testicular con espermatoцитos secundarios, espermátides y algunos ovocitos primarios lo que indicaba reversión sexual en los peces.

Melard (1994) utilizando 17 α -etinilestradiol aplicado en el alimento indujo la producción de poblaciones monosexo en la tilapia *Oreochromis aureus*.

Borg (1994) observa claramente la gran importancia de la presencia de los andrógenos en la formación de las gónadas masculinas y el buen desarrollo del ciclo reproductor de los peces, resultando como las más importantes la Testosterona (T) y la 11-Cetotestosterona (11KT).

Grant (1994) con una población de *Onchorrhynchus mykiss*, aplicó 17- α metiltestosterona (MT) y 11 β -hidroxiandrostenediona (OHA) por inmersión, a una concentración de 400 mg/l por un período de 2 hrs, logrando una población de 100% machos. En este estudio se determinó que el período más efectivo para la reversión es de una semana después del nacimiento. En este caso, el efecto de inmersiones múltiples en MT producen un incremento del efecto de la masculinización, mientras que la inmersión con la otra hormona (OHA) sólo causó rangos bajos de masculinización obteniendo un 70% de machos en la población. La comparación de dos tipos de hormonas similares nos proporciona información necesaria para conocer la efectividad y la proporción en que es asimilada cada una, para que en estudios posteriores sea utilizada la más adecuada según se requiera en la experimentación.

Santandreu (1994) realizó un estudio en donde utilizando diferentes dosis de MT en salmón *Onchorrhynchus masou*, encontró que el crecimiento y la excreción de nitrógeno son importantes para comprender el mecanismo de acción de los esteroides anabólicos sobre el metabolismo de los peces, llegando a la conclusión de que la hormona incrementa el crecimiento y declina el catabolismo proteico, la MT no sólo se utiliza para la inducción e

inversión sexual, sino que también ayuda a incrementar el índice de crecimiento en las especies citadas.

Al-ablani (1995) utilizó MT por vía oral en *Promoxis nigromaculatus* por un período de 30 días, las dosis administradas fueron de 0.30 mg/kg y 0.60 mg/kg, con la primera dosis se obtuvo el 71% de población de machos y con la segunda una población de 90% machos, llegando a la conclusión de que la inducción o reversión sexual está influenciada por la concentración de hormona.

Al igual que la MT, la 11KT es capaz de inducir la formación y maduración de los gametos masculinos e inducir la espermiogénesis y la espermiación tal y como fue demostrado por Zvy Yaron (1995).

Otro ejemplo claro de la función de la MT se observa con el experimento de Blázquez (1995), quien trabajó con *Dicentrarchus labrax* al cual le suministró una sola concentración de hormona (10 mg/kg. de comida) por diferentes períodos de tiempo que van de 126-226 días, de 226-326 días y de 326-426 días después del nacimiento, con ayuda de la técnica histológica se determinaron las características anatómicas de la gónadas encontrando una proporción aumentada de machos de 93-100% en comparación con el control (79%).

La utilización de MT en los peces nos ayuda a determinar el período de tiempo óptimo para la administración de la hormona así como la duración y la concentración en que debe de ser aplicada.

Más recientemente, trabajos realizados con *Xiphophorus helleri* utilizando diferentes dosis de MT muestran que realmente la hormona actúa para inducir poblaciones 100% machos (Fuentes, 1998), además de que el efecto que tiene sobre la gónada de organismos adultos se denota con la presencia de modificaciones en el desarrollo normal de los ovocitos, afectando la ovogénesis y alterando el número de ovocitos en desarrollo, lo cual se manifiesta en la cantidad de crías al nacimiento, por lo que recomienda la utilización de dosis bajas (10 mg/kg. de comida) en la producción de machos (Márquez, 1999).

Carrillo y colaboradores (1999) estudian la proporción sexual en la progenie de *Dicentrarchus labrax* sometidos a la 17α -metiltestosterona durante la diferenciación sexual, este tratamiento aumentó el número de machos de 79.3% del grupo control, al 100% con una concentración de 10mg de hormona por kilogramo de alimento.

Bromley (2000) trabaja con la inducción de la diferenciación sexual, la fecundidad y la atresia de las gónadas del pez *S. maximus*, variando los niveles nutricionales encuentra que con porciones bajas de alimento se conduce a una disminución de hasta el 70% de la talla y el peso de los ovarios, acompañado de un pobre crecimiento de los ovocitos vitelogénicos e incluso ausencia de los mismos, en general un retraso en la maduración sexual, atresia y una considerable disminución en la fecundidad.

Hassin (2000) estudia la maduración temprana en el macho de *Morone saxatilis* mediante la administración de análogos de la hormona gonadotropina y testosterona, en este trabajo se observó que la acción de

ambas hormonas en machos maduros simula la acción natural de las hormonas foliculo-estimulante y luteinizante producidas en el cerebro y glándula pituitaria del pez, sin embargo el mismo tratamiento no tuvo efecto para los machos inmaduros.

Robers (2000) mide la regulación, síntesis y liberación de los niveles de hormona luteinizante en cultivos celulares de gónadas de pez gato africano *Clarias gariepinus* expuestas a testosterona, estradiol, dihidrotestosterona, 11-cetotestosterona y 11 β -hidroxiandrostenediona, todas ellas fisiológicamente relevantes en peces; en este trabajo se concluyó que tanto la testosterona como el estradiol elevan considerablemente los niveles de glicoproteína y de la hormona luteinizante, mientras que las otras hormonas no tuvieron efectos considerables, además de que inhiben la actividad de la aromatasa e impiden los efectos estimuladores de la testosterona.

Otro trabajo importante sobre aplicación de hormonas y su efecto en las gónadas de los peces es el realizado por Covaco (2001), quien utiliza testosterona y 11-cetotestosterona en machos normales y castrados de *Clarias gariepinus* demostrando que la castración reduce pero no impide la maduración asociada a la elevación del contenido de hormona luteinizante en la glándula pituitaria, mientras que la aplicación de testosterona disminuye los niveles de hormona luteinizante en la pituitaria y a su vez incrementa el número de células gonadótropas citológicamente maduras, aunque no se hayan encontrado evidencias de la proliferación de los mismos. La 11-cetotestosterona no tuvo, por su parte efecto en los machos castrados y sus efectos inhibitorios en las gónadas intactas se deba tal vez a la supresión de la producción de testosterona en las células de Leyding.

Carlisle (2001) prueba el efecto de la 11-cetotestosterona en la morfología de la papila genital del pez *Lythrypnus dalli* y encuentra que tras cinco días de administración 11-cetotestosterona las hembras de *L.dalli* presentan elevadas concentraciones de esta hormona en la orina al igual que los machos y se comienza a ver una considerable modificación en la papila genital aumentando en longitud y disminuyendo en grosor, siendo muy semejante a la papila masculina.

Blázquez (2001) continuando con su trabajo en *Dicentrarchus labrax* busca determinar el período crítico de la inducción sexual con una concentración de 10 mg de 17α -metiltestosterona por kilogramo de alimento y encuentra que está aplicada entre los días 86 y 106 post-fertilización da como resultado una completa masculinización en contraposición al 46% de hembras en el grupo control. Todos los tratamientos que se aplicaron entre los 110 y 210 días post-fertilización indujeron a una total masculinización, mientras que los tratamientos aplicados entre los 60 y los 160 días post-fertilización resultaron en una total supresión del desarrollo ovárico y de una parcial a una total inducción a la esterilidad.

Tveiten (2001) trabajó con varias concentraciones de testosterona y 17β -estradiol en el plasma del pez *Anarhichas lupus* utilizando diferentes temperaturas, encontrando que las concentraciones de ambas hormonas disminuyen considerablemente en los rangos mas elevados de temperatura, pero estas se restablecen rápidamente en cuanto los peces son regresados a su temperatura normal que es de entre 1 y 6°C, lo que indica que el nivel

hormonal de los peces está íntimamente ligado con la temperatura a la cual se encuentra su ambiente natural.

Lone (2001) hace una descripción de los cambios en la gónada durante la reversión sexual natural de *Sparidentex hasta*, evaluando el perfil hormonal de las gónadas, el cual determinó que la testosterona no mostró una relación significativa con el sexo, pero la 11-cetotestosterona tuvo un efecto muy importante con la maduración de las gónadas masculinas.

JUSTIFICACION

Las hormonas sexuales las cuales funcionan como mensajeros químicos, sintetizados por el sistema endocrino como respuesta más o menos directa a ciertas señales internas o externas del organismo, dichas sustancias se dividen en hormonas masculinas o andrógenos y en hormonas femeninas o estrógenos. La importancia de estas reside en el papel fisiológico que consiste en regular, coordinar y dirigir las reacciones bioquímicas que determinan el desarrollo de ciertos órganos, como las gónadas. Los representantes más importantes de cada grupo son respectivamente la testosterona y el 17β -estradiol (Lozano, 1996).

En peces la utilización de hormonas sexuales se da con la finalidad de que las especies adquieran características específicas que facilitan su manejo o comercialización, estas hormonas son de gran utilidad en algunas especies comerciales como en el caso de los salmones, en los cuales las hembras al tener una talla superior en comparación con la de machos adquieren un

valor comercial mucho mayor, estas mismas hormonas en peces de ornato ayudan a que la coloración y vistosidad que son de gran importancia, se desarrollen tanto en machos como en hembras.

Se han llevado a cabo trabajos de inducción de la diferenciación sexual utilizando hormonas en 47 especies pertenecientes a diferentes familias dentro de las que se encuentran *Cichlidae*, *Cyprinodontidae*, *Anabantidae*, *Poeciliidae*, *Salmonidae* y *Cyprinidae* (Márquez, 1999), *Labridae* (Park, 2001) y *Gobidae* (Caputo, 2001). La administración de las hormonas se puede dar por varias formas, entre las que se encuentran la inyección subcutánea, disueltas en el agua por inmersión, introducción de cristales bajo la piel y mezclados en el alimento, este último es el más utilizado.

La administración de la hormona por vía oral mezclada con el alimento es la más práctica ya que al no tener contacto directo con los organismos se evita que éstos sufran cualquier tipo de estrés debido a la manipulación física, a la falta de oxigenación o a los cambios bruscos al cambiar de un medio a otro.

Entre las hormonas que producen la masculinización y feminización respectivamente se encuentran la 17α -metiltestosterona y estradiol- 17β , el uso de estas hormonas puede aumentar la mortandad dependiendo de las dosis en que se utilice e incluso pueden acelerar el crecimiento en algunas especies (cíclidos y ciprínidos).

La inducción de la reversión puede servir como una herramienta para entender los procesos de diferenciación sexual y la producción de poblaciones monosexo en la industria de la acuicultura (Márquez, 1999).

Con la reversión sexual por medio de hormonas es sencillo comprender la actividad reproductora de un gran número de organismos, además de que se puede controlar la producción de machos o hembras según convenga.

IZT.

En la mayoría de los trabajos realizados con hormonas en peces se utilizan organismos juveniles los cuales después de absorber el saco vitelino, lo primero que consumen es el alimento hormonado observando los resultados en los organismos adultos.

Kramer y Kallman (1985) trabajaron con *Xiphophorus helleri* para saber si es posible determinar físicamente el sexo en estadios tempranos de desarrollo y encontraron que a partir de los 8.4 días es posible reconocer un dimorfismo sexual basado en ciertos rasgos somáticos de la gónada, concluyendo que el sexo gonadal queda determinado antes de nacer (Fuentes, 1998).



U.N.A.M. CAMPUS

OBJETIVOS

Por lo anterior los objetivos de este trabajo son:

- Determinar el efecto de la hormona 17 α -metiltestosterona en gónadas de crías de la especie *Xiphophorus helleri* (peces cola de espada).
- Determinar si la concentración de 8mg/kg tiene el mismo efecto que la de 12mg/kg.
- Comprobar si la 17 α -metiltestosterona tiene efectos sobre el crecimiento corporal de los organismos.

METODOLOGIA

Para la realización del presente trabajo, la metodología se encuentra dividida en dos partes, la primera que abarca el tratamiento hormonal en las crías y la segunda que está constituida por la evaluación microscópica de las gónadas.

Primera parte

Se obtuvieron varias hembras preñadas de *Xiphophorus helleri* las cuales se compraron en el mercado Emilio Carranza de la colonia Morelos en el Distrito Federal, estas se mantuvieron en peceras de 50L, se les acondicionó una maternidad y se les alimentó con hojuelas de la marca Wardley. De estas hembras, ocho en total se obtuvieron aproximadamente 320 crías durante los primeros cinco días después de su compra.

Posteriormente se seleccionaron aleatoria mente 270 crías recién nacidas las que se trataron con diferentes concentraciones de la hormona 17α -metiltestosterona a partir del primer día de nacidas.

Tomando en cuenta la metodología de Fuentes (1998) y Márquez (1999), se preparo y administro el alimento de la siguiente forma: Se manejaron dosis de 8 miligramos de hormona por kilogramo de alimento (mg/kg.), 12mg/kg y 0mg/kg (control). Las dosis fueron preparadas por dilución en alcohol siguiendo la técnica de Guerrero (1975) y se utilizó iniciador de trucha de la marca Purina en presentación de harina como alimento, proporcionado *ad libitum*.

Se prepararon un total de 9 peceras de 50L, esto para las tres condiciones experimentales y dos repeticiones de cada una, se acondicionaron con un filtro de caja con la finalidad de mantener lo más limpia posible el agua, colocándose 30 individuos por cada pecera con un peso promedio de 0.024 g y una talla promedio de 104 mm.

Las condiciones fisicoquímicas bajo las cuales se mantuvieron los peces fueron las siguientes: temperatura de $24^{\circ}\text{C} + -1^{\circ}\text{C}$, pH de $7.2 + -0.1$, foto periodo de 13 horas de luz por 11 horas de oscuridad, aireación y filtración constante, llevando para ello un registro diario con la finalidad de detectar y corregir alteraciones en los parámetros.

Con una periodicidad de diez días, de cada tratamiento se tomaron aleatoriamente tres organismos, los cuales se midieron, se pesaron y posteriormente se sacrificaron para extraer la gónada. Las gónadas extraídas fueron conservadas en formol al 10% para la realización posterior de la técnica histológica, la cual es el instrumento para poder observar y evaluar adecuadamente el efecto de la hormona en los diferentes tipos celulares que conforman las gónadas.

La duración de la alimentación hormonada fue de 100 días durante los cuales se obtuvieron 10 muestras por tratamiento y por repetición debido a que ese tiempo los peces ya pueden ser sexadas por características sexuales secundarias (Márquez, 1999).

Segunda parte

Los organismos tratados con las dosis de 8 y 12 mg/kg, así como a los organismos del grupo control antes de someterlos a la disección para extraer las gónadas, se les midió la talla en mm con la ayuda de un papel milimétrico y el peso en gramos en una balanza analítica, registrándose todos los datos en la tabla 3.

Una vez que se registró el peso y la talla de los organismos, se les sometió a una disección con ayuda de un microscopio estereoscópico para poder extraer las gónadas y procesarlas para la realización de la técnica histológica, tomada de Junqueira (1991). En aquellos casos en que la gónada no pudo ser procesada por su tamaño, se procedió a incluir en parafina al pez completo y seguir los mismos pasos de la técnica histológica. Durante la disección pudo determinarse el sexo gonadal de cada uno de los peces tomando en cuenta la escala empírica de maduración gonadal de Nikolsky (1963).

Paralelamente se mantuvo una repetición extra de cada dosis manejada, bajo las mismas condiciones y sin tomar muestras para determinar la proporción sexual fenotípica al finalizar el tratamiento.

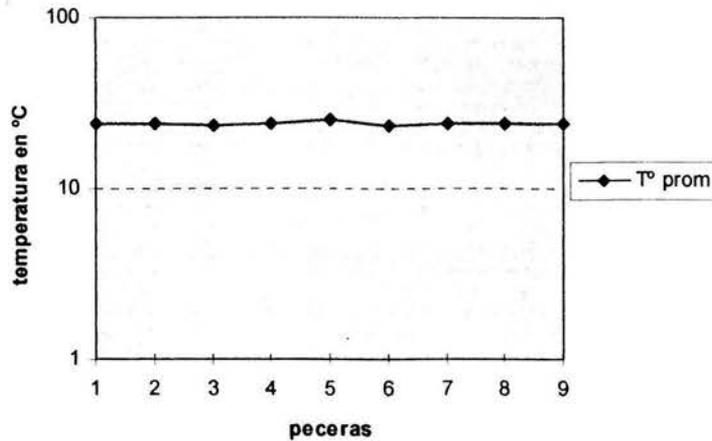
El análisis estadístico utilizado en el presente trabajo fue un Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar diferencias significativas entre los tres tratamientos y una Prueba de Tukey para comprobar las diferencias existentes entre las dos concentraciones de la hormona, ambas con un nivel de confianza de 0.05, estas pruebas se realizaron con ayuda del programa Statistica para Windows versión 4.5

RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

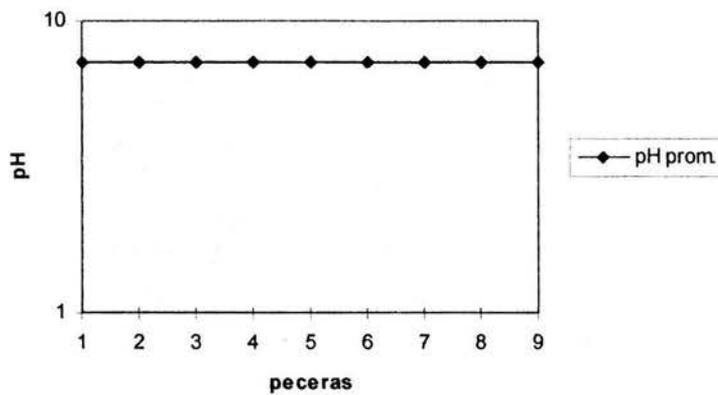
Las condiciones ambientales en las que se desarrollaron los organismos tratados no tuvieron variaciones considerables (gráficas 1 y 2) y se mantuvieron siempre dentro de los parámetros óptimos para el adecuado mantenimiento de los peces (tabla 1), lo cual sugiere que los efectos o cambios en las condiciones fisiológicas de las gónadas estuvieron influenciadas directamente por la administración de la 17- α metiltestosterona y no a cambios importantes en el ambiente, Rodríguez (1989) señala que el ciclo de vida de cada especie está íntimamente relacionado con factores como temperatura, foto periodo y disponibilidad de alimento, que afectan directamente el eje endocrinológico en la estimulación hormonal induciendo a uno u otro sexo.

Tabla 1.- Condiciones ambientales registradas en todas las peceras durante los cien días de tratamiento.

FACTOR	CONDICIÓN PROMEDIO
pH	7.2 \pm 0.1
Temperatura	24°C \pm 1°C
Aireación	Sin problemas
foto periodo	13 h. luz/11 h. oscuridad
Mortalidad	0
Filtración	Sin problemas



gráfica 1, temperatura promedio registrada durante el tratamiento



gráfica 2, pH promedio registrado durante el tratamiento

La distinción entre ovarios y testículos en las disecciones de los organismos se basó en las tablas de maduración gonádica de Nikolsky (1963), que señalan a los testículos como estructuras pareadas alargadas y translúcidas y sin evidencia de células germinales (Fig. 3), mientras que los ovarios de acuerdo con el mismo criterio son sacos pareados de color amarillento con indicio de gametos (Fig. 4), además esto se sustenta por las observaciones

de Eisenberg (1923) quien dice que las gónadas pareadas de las hembras de *Xiphophorus helleri* se fusionan y forman un ovario sencillo y la superficie media de las gónadas forman la cavidad del ovario, mientras que en los machos las gónadas permanecen siempre pareadas. Sin embargo durante las primeras cuatro semanas de vida de los peces las gónadas se encuentran indiferenciadas (Fig. 5), por lo que el criterio de selección entre machos y hembras se inicia con certeza a partir de los cuarenta días de tratamiento.



Fig. 3 Organismo de cien días de nacido del grupo control en el que se observan los testículos (T) inmersos en la cavidad abdominal (Ca), cerca del hígado (H), aumento 60X (tomado por J. C. Benítez)

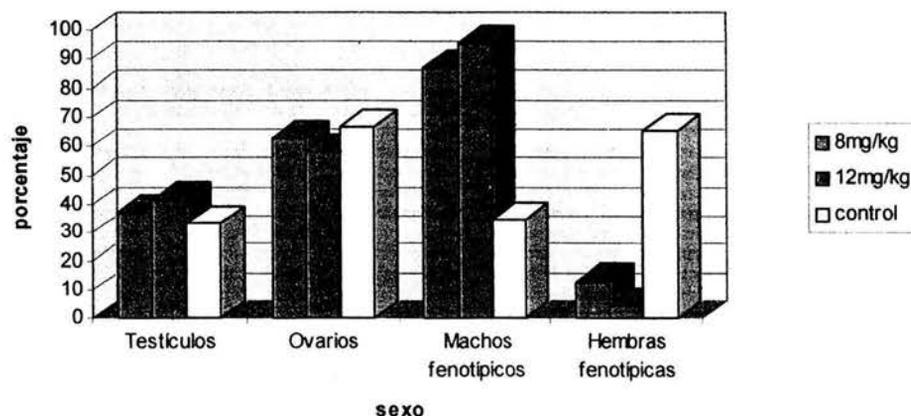


Fig. 4. Ovarios de un individuo de cien días de nacido del grupo control en donde se distinguen los ovocitos (Ov) inmersos en la cavidad abdominal (Ca), cerca del intestino (I), aumento 80X (tomados por J. C. Benítez)



Fig. 5. Gónadas indiferenciadas (Gi) de un individuo de 20 días de nacido del grupo control, ubicadas por debajo de la vejiga gaseosa (Vg) y muy cerca del intestino (I), aumento 60X, (tomadas por J.C. Benítez)

La proporción sexual de los organismos tratados puede dividirse en dos factores, el sexo gonadal y el sexo fenotípico, ambos influenciados de manera diferente por la administración de la $17\ \alpha$ -metiltestosterona, en primer lugar el sexo gonadal expresado en ovarios o testículos conserva una proporción muy similar en los tres grupos experimentales (tabla 2), manteniendo un porcentaje superior de ovarios (dos terceras partes en el grupo control) sobre los testículos, para la dosis de 8 mg/kg el porcentaje de ovarios es muy similar al grupo control disminuyendo menos del cinco por ciento y en la dosis de 12mg/kg aumenta el porcentaje de testículos pero se mantiene por debajo del porcentaje de ovarios. Mientras que el segundo factor, que es el sexo fenotípico observado en los tratamientos, revela efectos completamente diferentes (gráfica 3), llegándose en la dosis de 8 mg/kg a un porcentaje de machos del 86.9% y para la dosis de 12 mg/kg del 95.2%, mientras que el grupo control se mantiene con porcentajes muy similares a los observados con el sexo gonadal.



gráfica 3, proporción sexual fenotípica y gonadal en los tres tratamientos

Se muestran claramente que la hormona no tiene un efecto importante sobre la diferenciación de las gónadas entendiendo a esta según Krisfalusi (2000) como el proceso por el cual las células comienzan a especializarse en estructura y función y el fenotipo gonadal es expresado, incluyendo a ambas gonadogénesis, la formación de los componentes somáticos de la gónada y la gametogénesis que es la formación y desarrollo de los gametos.

Sin embargo, la hormona si afecta notablemente las características sexuales secundarias de los organismos, promoviendo que la mayoría de los peces se expresen como machos fenotípicos aunque en el sexo gonadal se mantenga un porcentaje mayor de hembras (tabla 2) lo que sugiere que la hormona puede ser utilizada para darle mayor vistosidad a los peces (por su apariencia de macho) e incrementar su comercialización, pero sin revertir completamente su sexo.

Tabla 2. Proporción sexual tanto en las gónadas de los organismos disectados como en el fenotipo de los individuos de las peceras alternas con el mismo tratamiento y las mismas condiciones (T= Testículo, O= Ovario, I= gónada indiferenciada).

Edad en días	muestra	8mg/kg	12mg/kg	control
10	1	I	I	I
	2	I	I	I
	3	I	I	I
20	1	I	I	I
	2	I	T	I
	3	T	I	I
30	1	I	O	I
	2	T	I	I
	3	O	T	I
40	1	O	T	O
	2	T	O	O
	3	T	O	T
50	1	T	T	T
	2	O	O	O
	3	O	O	O
60	1	T	O	T
	2	O	O	O
	3	O	O	O
70	1	O	O	T
	2	O	T	O
	3	T	T	O
80	1	O	T	T
	2	O	O	O
	3	T	T	O
90	1	O	O	O
	2	O	O	O
	3	O	T	O
100	1	T	O	O
	2	O	T	T
	3	O	O	T
% O		62.2	58.3	66.6
% T		37.5	41.6	33.3
% Hembras fenotípicas		13	4.7	65.3
% Machos fenotípicos		86.9	95.2	34.6

Algunos resultados sobresalientes obtenidos de las disecciones son los efectos de la hormona principalmente en dosis de 12 mg/kg, que pudieron ser apreciados macroscópicamente al momento de extraer las gónadas a un individuo de cien días de nacido que presentaba características sexuales de macho (Fig. 6), la prolongación de la aleta caudal y la fusión de la aleta anal como gonopodio, pero que al ser disectado presentó un par de ovarios bien definidos (Fig. 7), lo que demuestra que la hormona altera el sexo fenotípico de los organismos pero no cambia el sexo gonadal de los mismos.

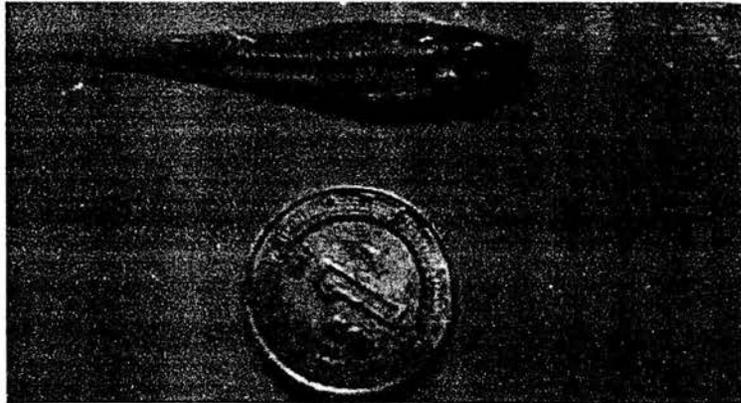


Fig. 6. Organismo de cien días de nacido tratado con dosis de 12 mg/kg, presentando características sexuales de macho (tomado por Alba Márquez).



Fig. 7. Mismo individuo disectado en el que se aprecia el ovario (Ov) y el hígado (H) inmersos en la cavidad abdominal (Ca), la aleta pélvica (Ap) y los radios de la aleta anal fusionados (Rf) formando el gonopodio (tomado por J.C. Benítez).

La diferenciación de las gónadas de *Xiphophorus helleri* de acuerdo con Eisenberg (1923) no se presenta sino hasta después de las primeras semanas de vida del organismo, lo cual se puede apreciar en la (Fig. 8) que muestra que en estado natural estos peces no presentan células germinales diferenciadas hasta los treinta días de nacidos, sin embargo con la administración de la 17α - metiltestosterona, los testículos ya pueden ser apreciados desde los treinta días con dosis de 8 mg/kg (Fig. 9), e incluso los ovarios pueden presentar cierto grado de reversión (Fig. 10) a esta misma edad si se tratan con dosis de 12 mg/kg.

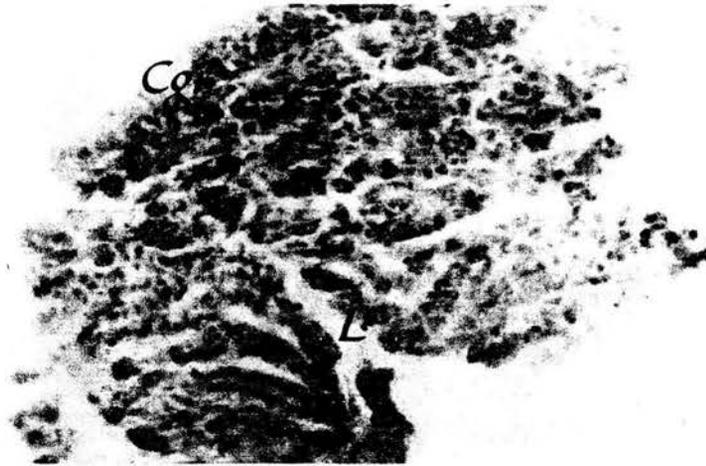


Fig. 8. Corte representativo de la estructura gonadal de los organismos del grupo control de cero a treinta días de nacidos en donde se aprecia el lumen (L) y algunas células germinales indiferenciadas (Cgi), aumento 800X (Tomado por Cecilia Santos).

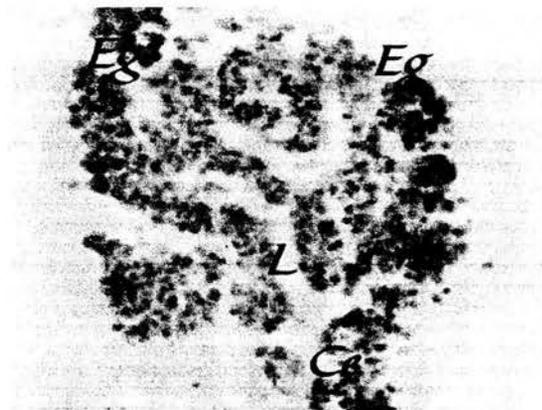


Fig. 9. Corte transversal de un testículo de un individuo de treinta días de nacido tratado con dosis de 8mg/kg en el cual se aprecian alguna espermatogonias (Eg), el lumen (L) y varios conductos espermáticos (Ce), aumento 400X (Tomado por J.C. Benítez).



Fig. 10. Corte longitudinal de la gónada de un individuo de treinta días de nacido tratado con una dosis de 12 mg/kg, el la que se aprecian además de algunos ovocitos (Ov) algunos paquetes de espermatogonias (Eg), aumento 200X (Tomado por J.C Benítez)

A partir de los cuarenta días de vida de los organismos, puede apreciarse que las gónadas en estado natural (grupo control) ya se encuentran diferenciadas como ovarios (Fig. 11) o como testículos (Fig. 12), así mismo puede apreciarse también que las gónadas no sufren alteraciones considerables si se tratan con dosis de 8 mg/kg de 17α - metiltestosterona (Fig. 13) presentando estructuras ováricas muy similares al grupo control. Sin embargo, cuando se aplica la dosis de 12 mg/kg se pueden encontrar gónadas inmaduras (Fig. 14) o por el contrario testículos mucho más desarrollados que en el grupo control (Fig.15), esto debido a que la hormona altera el desarrollo normal de los ovarios retrasando o impidiendo su maduración, mientras que en el caso de los testículos promueve considerablemente su desarrollo acelerando su maduración.

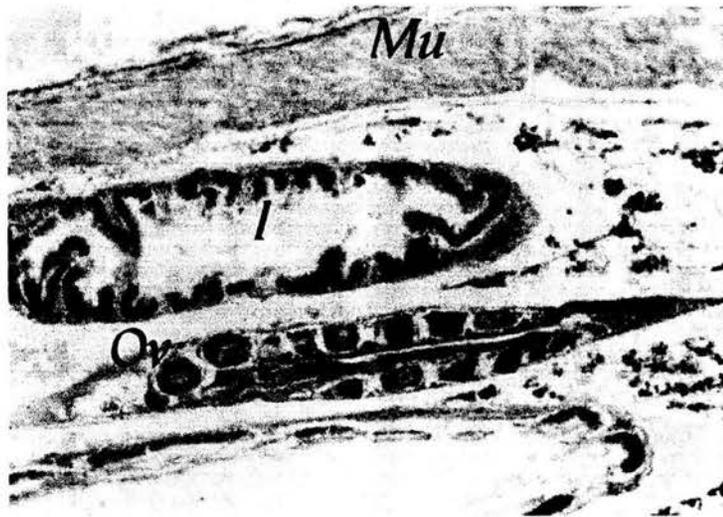


Fig. 11. Corte longitudinal de un pez del grupo control representativo de cuarenta a sesenta días de nacido en donde se aprecia el intestino (I), la musculatura (mu) y un ovario (Ov) bien definido, también se aprecia el lumen (L), aumento 200X (tomado por Cecilia Santos).



Fig. 12. Corte representativo de un testículo de cuarenta a sesenta días del grupo control en el que se distinguen algunos cistos (Ci) y conductos espermáticos (Ce), aumento 400X (tomado por Cecilia Santos).

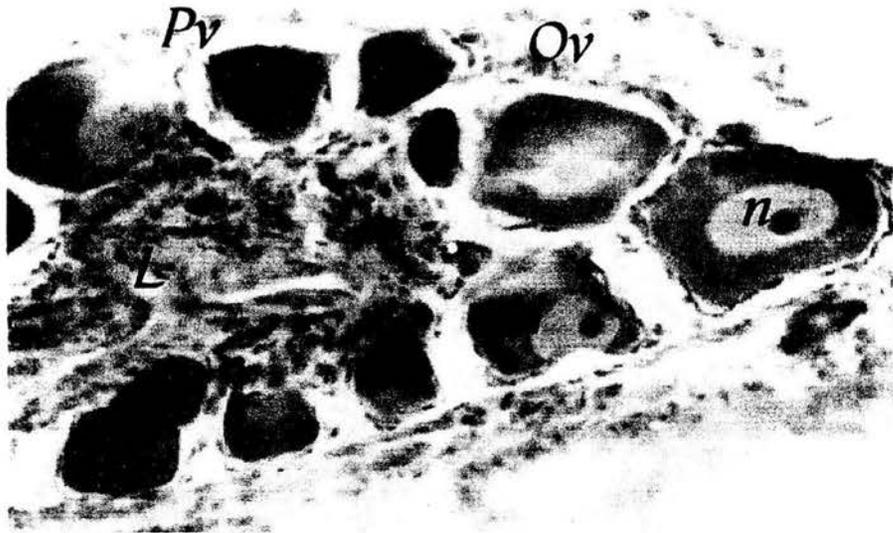


Fig. 13. Corte transversal del ovario de un individuo representativo de cuarenta a sesenta días tratado con dosis de 8mg/kg que muestra a los ovocitos (Ov) con núcleos (N) y nucleolos (n) bien definidos, ovocitos previtelogénicos (Pv), en la periferia de la gónada y hacia el centro el lumen (L), aumento 400X (Tomado por J.C. Benítez).

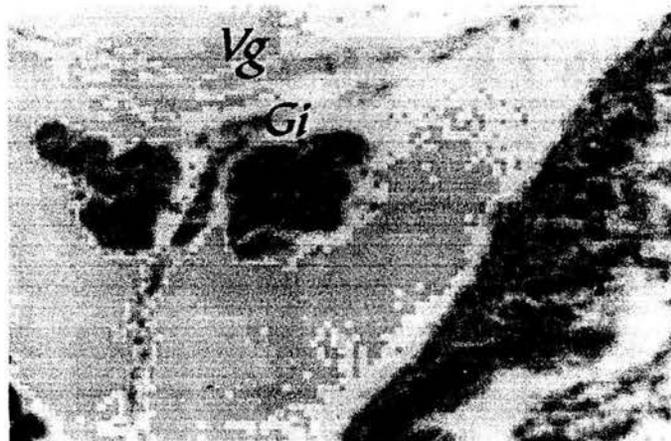


Fig. 14. Corte transversal de un pez representativo de cuarenta a sesenta días de nacido con una dosis de 12 mg/kg, en el que se distinguen las gónadas indiferenciadas (Gi) al lado del intestino (I), por debajo de la vejiga gaseosa (Vg), aumento 200X (tomado por Cecilia Santos).

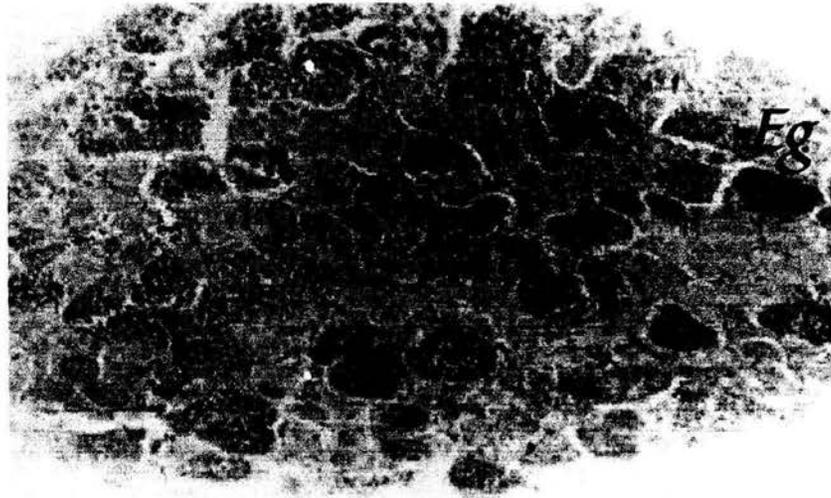


Fig. 15. Corte transversal del testículo de un individuo representativo de cuarenta a sesenta días con dosis de 12 mg/kg en el que se aprecian los paquetes de espermatogonias (Eg) y espermátides (Ea), aumento 400X (tomado por J.C. Benítez).

Entre los setenta y ochenta días en los individuos del grupo control pueden observarse bien diferenciados los ovocitos y en un alto grado de desarrollo dentro del ovario (Fig. 16) y un considerable número de cistos con espermatogonias y espermátides en los testículos, lo que evidencia un crecimiento normal en las gónadas, sin embargo, tanto para la dosis de 8mg/kg (Fig. 17) como para la dosis de 12 mg/kg (Fig. 18) se puede apreciar un considerable retraso en el desarrollo de los ovarios llegando los ovocitos a estadios de maduración inferiores al grupo control.

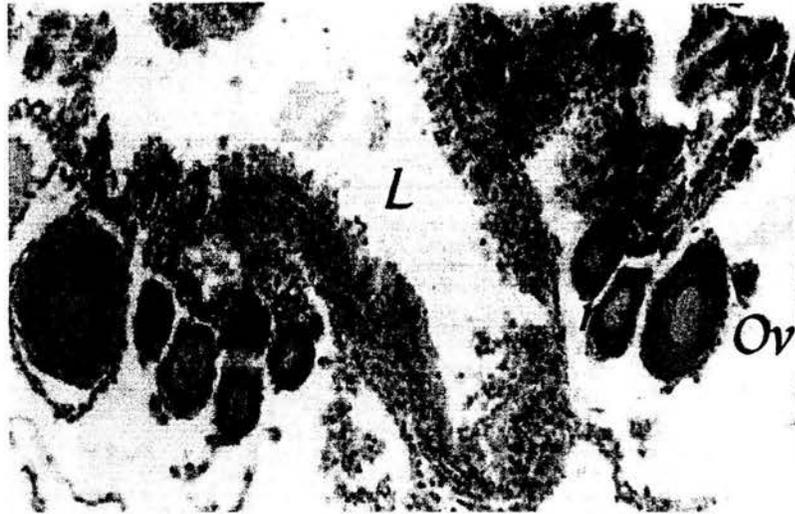


Fig. 16. Corte representativo de un ovario de los organismos del grupo control de setenta y ochenta días de nacidos, donde se observan los ovocitos en un alto grado de desarrollo aumento 400X (tomado por J.C. Benítez).

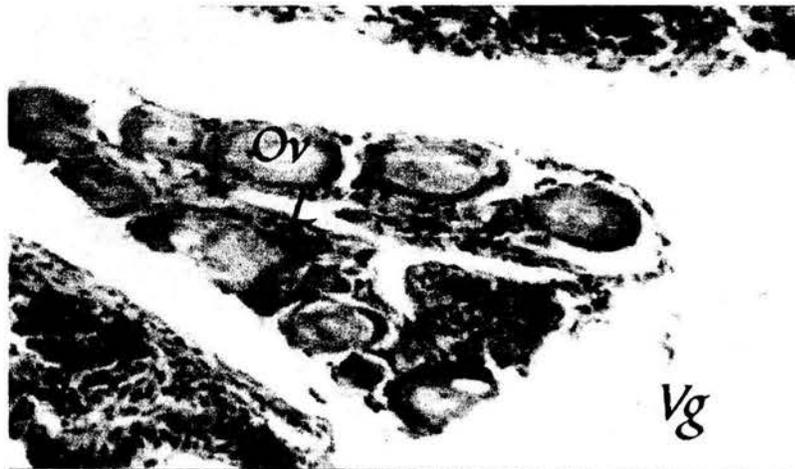


Fig. 17. Corte representativo de un ovario de los organismos tratados con dosis de 8 mg/kg de setenta y ochenta días de nacidos, en donde se observan ovocitos (Ov), aumento 400X (tomado por J.C. Benítez).

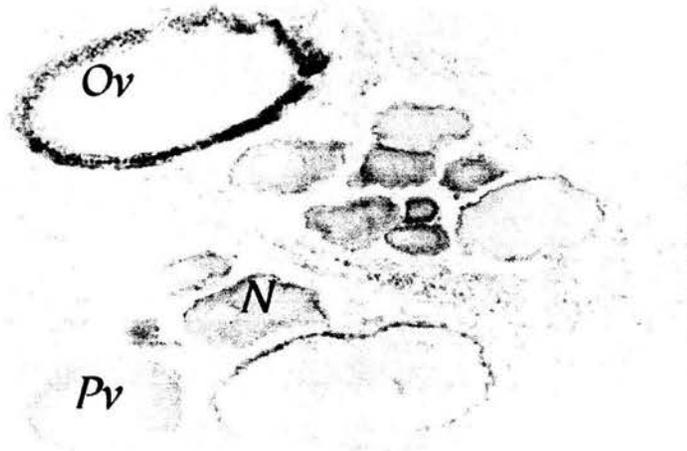


Fig. 18. Corte representativo de un ovario de los organismos tratados con dosis de 12 mg/kg de setenta y ochenta días de nacidos, en donde se observan claramente ovocitos previtelogénicos (Pv), aumento 400X (tomado por J.C. Benítez).

Los cortes de noventa y cien días muestran que la 17 α -metiltestosterona tiene un efecto negativo en el desarrollo de los ovarios, atrofiando los ovocitos en ambas dosis, aunque de una manera muy leve en la dosis de 8 mg/ kg (Fig. 20) y de manera más severa en la dosis de 12 mg/kg (Fig. 21) en comparación con el grupo control (Fig. 19).

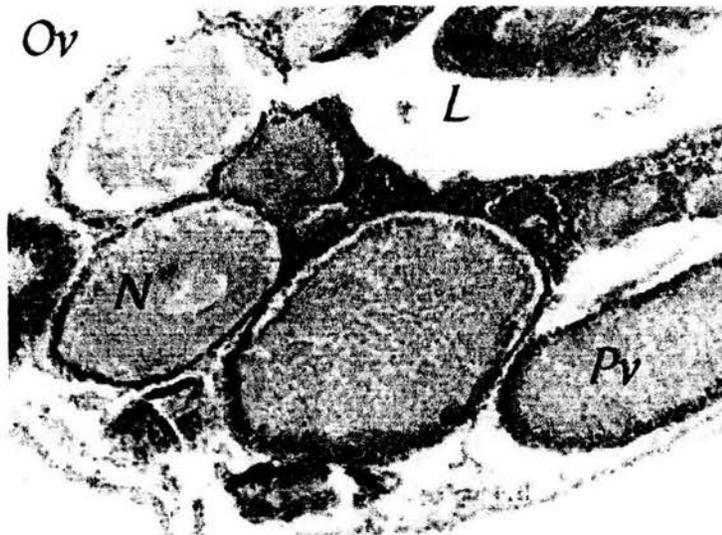


Fig. 19. Corte representativo del ovario de los individuos del grupo control de noventa y cien días de nacidos en el que se aprecian algunos ovocitos muy desarrollados (Ov) que muestran los núcleos (N) y nucleolos (n) aumento 400X (tomado por J.C. Benítez).

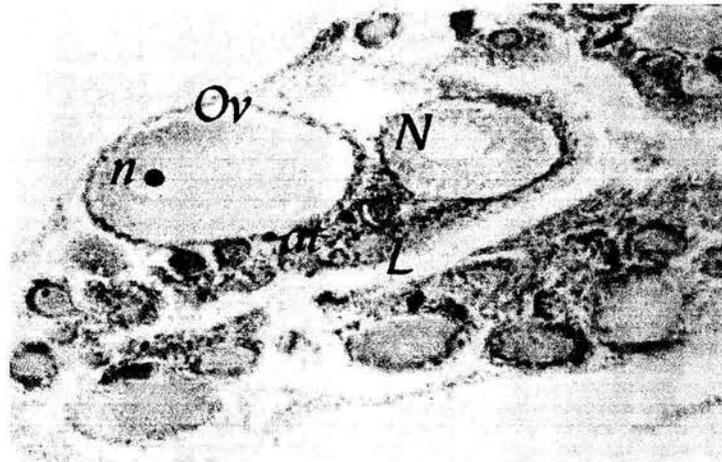


Fig. 20. Corte transversal del ovario de un individuo representativo de noventa y cien días de nacidos tratado con dosis de 8mg/kg en donde se aprecia a los ovocitos (Ov) en un grado de desarrollo normal, junto a un ovocito atrésico (at), aumento 400X (tomado por Cecilia Santos).

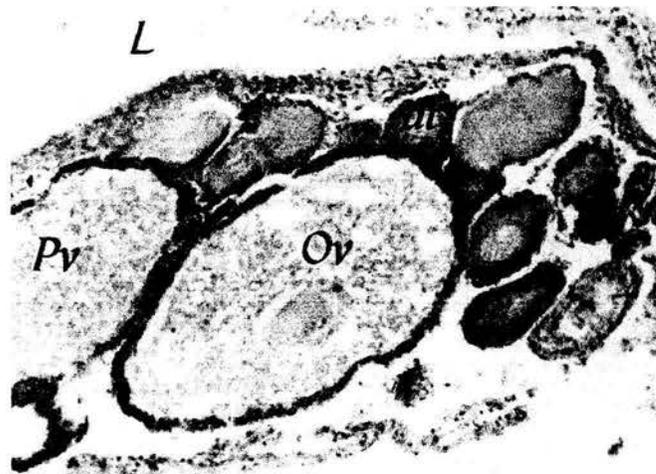


Fig. 21. Corte transversal del ovario de un individuo representativo de noventa y cien días de nacidos tratado con dosis de 12mg/kg en donde se aprecia a los ovocitos previtelogénicos (Pv) y algunos ovocitos atrésicos (at), aumento 400X (tomado por Cecilia Santos).

Finalmente el efecto de la hormona $17\ \alpha$ -metiltestosterona en la ganancia de peso y talla en los organismos se manifiesta de una manera gradual y con un amplio margen entre los dos tratamientos utilizados (fig. 22), es decir, los organismos tratados con la concentración de 8 mg/kg presentan un desarrollo muy similar al que presentan los organismos del grupo control mientras que los peces sometidos a la concentración de 12 mg/kg se desarrollan más ampliamente alcanzando pesos y tallas mayores en comparación con los individuos de las otras unidades experimentales (tabla 3, gráficas 4 y 5).

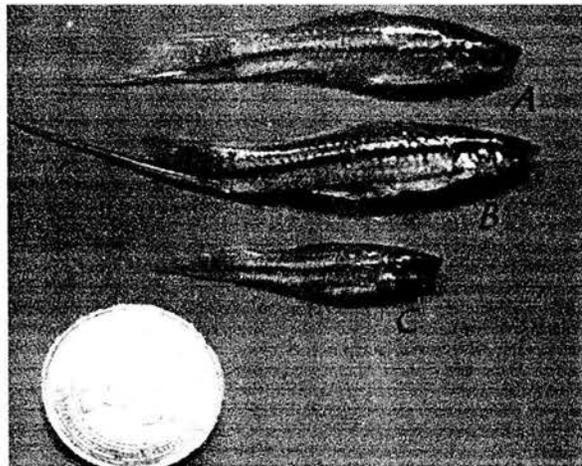
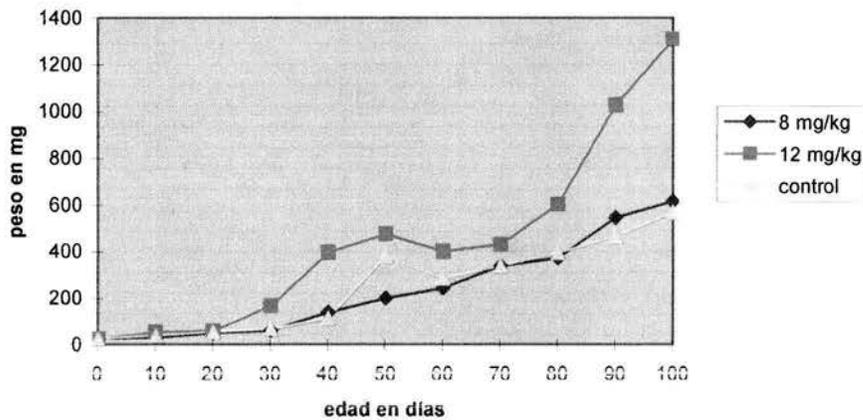


Fig. 22. Se aprecia la diferencia de talla entre los individuos de 100 días de nacidos con tratamientos de 8 mg/kg (A), 12 mg/kg (B) y del grupo control (C). (Tomada por Cecilia Santos).

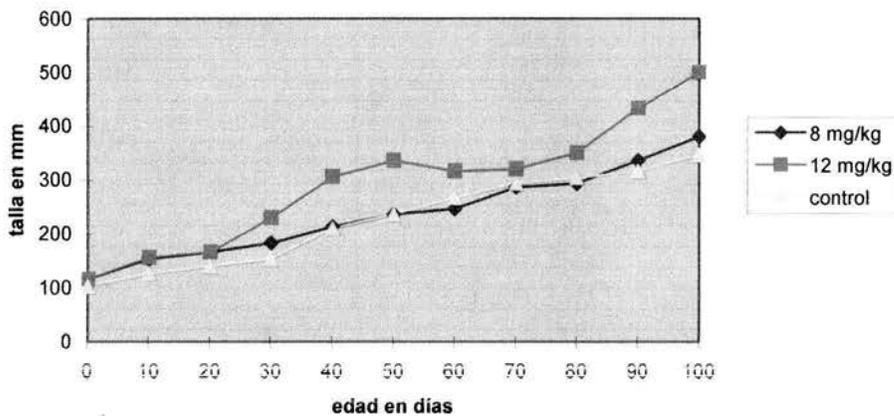
Al respecto, Gannam (1990) señala que el efecto positivo de las hormonas sexuales como la 17 α -metiltestosterona o la 11 - cetotestosterona como agentes anabólicos en el crecimiento y aumento proteínico de los animales comerciales de sangre caliente, han conducido a la investigación de los posibles beneficios de estas hormonas en la piscicultura debido a que estas hormonas pueden ser administradas a través de la dieta, teniendo efectos directos sobre el incremento de peso y talla, o de la vistosidad de los machos, aumentando así la posibilidad reproductiva de los mismos, ya que Rosenthal (1996), Helfman (1997), Morris (1998), Trainor (2000) y Merry (2001) sostienen que las hembras de *Xiphophorus helleri* prefieren a los machos con espadas más largas y con barras de coloración más vivas, para aparearse, pues cuando tienen que decidir entre dos machos, el que tiene mayor longitud en la espada y coloración más llamativa es el que tiene más posibilidades de apareamiento; además de presentarse como individuos con mayores oportunidades de ser comercializados.

Tabla 3.- Valores promedio de peso y talla en los tres tratamientos durante los cien días de experimentación.

Edad días	8 mg/kg		12 mg/kg		Control	
	en Peso en g	Talla mm	en Peso en g	Talla mm	en Peso en g	Talla mm
0	0.027	116	0.024	116	0.026	103
10	0.030	153	0.053	156	0.038	126
20	0.050	166	0.058	166	0.054	140
30	0.060	183	0.166	230	0.066	153
40	0.137	213	0.396	306	0.112	210
50	0.199	236	0.474	336	0.379	236
60	0.242	246	0.400	316	0.282	266
70	0.337	286	0.428	320	0.337	293
80	0.371	293	0.602	350	0.392	303
90	0.545	336	1.026	433	0.463	316
100	0.614	380	1.309	500	0.567	346



gráfica 4, ganancia de peso en los tres tratamientos



gráfica 5, ganancia de talla en los tres tratamientos

El análisis estadístico realizado nos indica que hay diferencias significativas en la ganancia de peso y talla entre el tratamiento de 12 mg/kg con el tratamiento de 8mg/kg y el grupo control (Probabilidad observada de 0.000114), pero entre el tratamiento de 8mg/kg y el grupo control no hay diferencias estadísticamente significativas (probabilidad observada de 0.925699), lo que sugiere que para lograr un efecto anabólico en los peces mediante la administración de 17 α -metiltestosterona es necesario aplicar la dosis de 12 mg/kg.

CONCLUSIONES

La inducción sexual fenotípica en *Xiphophorus helleri* tras la administración de 17α - Metiltestosterona en el alimento es muy elevada, ya que se presenta un mayor número de machos en los dos tratamientos que en el grupo control.

El sexo gonadal de *Xiphophorus helleri* tras la administración de 17α - Metiltestosterona en el alimento no es afectado microscópicamente por la hormona en ninguna de sus dosis, ya que la proporción entre ovarios y testículos (machos y hembras) se mantiene con porcentajes muy semejantes al grupo control.

El tiempo de administración mínimo de la hormona para ver sus efectos tanto en las gónadas como en el crecimiento del organismo es de veinte días.

La dosis de 8mg/kg promueve un desarrollo avanzado en los testículos y un retraso en el desarrollo de los ovarios, manteniendo a los ovocitos como previtelogénicos, así como una atresia importante en algunos ovocitos. La dosis de 12 mg/kg tiene un efecto directo sobre el incremento de peso y talla, mucho mayor que la dosis de 8 mg/kg, que se mantiene muy similar al grupo control, por lo que esta dosis puede ser utilizada como un agente anabólico. También promueve el desarrollo en los testículos y un retraso en el desarrollo ovárico, logrando además una reversión gonadal incompleta en algunos casos y una considerable alteración en los ovocitos en las edades más avanzadas.

APENDICE

1. Técnica histológica

La realización de la técnica histológica se llevarán a cabo los siguientes pasos.

1. Gónada en formol al 10% por 24 horas, como mínimo.
2. Lavar en agua corriente de 15 a 30 minutos como mínimo.
3. Deshidratar con alcoholes de concentración ascendente.

Alcohol	Tiempo
70%	1 hora
80%	1 hora
96%	no más de dos horas
100%	no más de dos horas

4. Aclarar en aceite de cedro-cloroformo (1:1) mínimo por 12 horas.
5. Aceite de cedro, mínimo 24 horas.
6. Paso rápido con cloroformo.
7. inclusión en parafina.

Impregnación	Parafina I	2 horas
	Parafina II	2 horas
	Paraplast	2 horas
Bloque	Paraplast	hasta que solidifique

8. Cortar al micrótopo y colocar la serie de cortes en un porta-objetos, agregando Ruyter para que estiren los tejidos y se ponen en el horno para que se adhieran al portaobjetos.

9. Una vez que las laminillas con los tejidos están listas, se llevan a cabo la tinción.

	REACTIVO	TIEMPO
DESPARAFINAR	Xilol I	5 min.
	Xilol II	5 min.
HIDRATAR	OH-100%	1 a 3 min.
	OH-96%	1 a 3 min.
	OH-90%	1 a 3 min.
	OH-80%	1 a 3 min.
	OH-70%	1 a 3 min.
	Agua corriente	paso rápido
	Hematoxilina de Harris	7 a 10 min.
DESHIDRATAR	Alcohol ácido	paso rápido
	Agua corriente	paso rápido
	Agua amoniaca	paso rápido
	Agua corriente	paso rápido
	Eosina	3 a 4 min.
	OH-70%	5 min.
	OH-80%	5 min.
OH-90%	5 min.	
OH-96%	5 min.	
OH-96%	5 min.	
OH-100%	5 min.	
OH-100%	5 min.	

10. Ya concluida la tinción se observa al microscopio.

(Junqueira, 1991)

Nota: La técnica anterior se encuentra estandarizada para gónadas.

Apéndice 2.- Información nutrimental del alimento utilizado para los tres tratamientos

PRESENTACIÓN	HARINA
HUMEDAD	12.0% MAX
PROTEINA	50.0% MIN
GRASA	15.0% MIN
FIBRA CRUDA	4.0% MAX
CENIZAS	12% MAX
CALCIO	2.0% MIN
FOSFORO	1.20% MIN
E.L.N.	7.0% P/DIF

BIBLIOGRAFIA

Abad, S. A., 1996. Estudio morfológico, macro y microscópico de las gónadas de *Gobionellus hastatus* en diferentes etapas de desarrollo. U.N.A.M. Campus Iztacala. Tesis de Licenciatura en Biología, México.

Aguilera, H. P., 1994. ¿Qué es la acuicultura? Secretaría de Pesca, México. pp 9-21.

Aguirre, F., 1995. Historia del acuarismo en México. Aquarium No. 1 Lictoproces, Julio/Sept.

Al-ablani, S., Phelps, R. P., 1997. Sex reversal in black crappie *Promoxis nigromaculatus*: effect of oral administration of 17 α -methyl testosterone on two age classes. Aquaculture, 158:155-166.

Álvarez, J. V., 1970. Peces Mexicanos. Edit. Secretaría de Industria y Comercio. México. pp. 106-109.

Badillo, A., 1998. Algunos aspectos de la biología de *Gobionellus hastatus* (Familia: Gobidae) en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. U.N.A.M. Tesis de licenciatura en biología, México.

Baras, E., Prignon, C., Gohoungou G., Melard C. 2000. Phenotypic sex differentiation of blue tilapia under constant and fluctuating thermal regimes and its adaptive and evolutionary implications. Journal of Fish Biology. Vol. 57. No. 1 jul. pp. 210-223.

- Barnabe, G., 1991. Acuicultura. Vol. VII. Edit. Omega. Barcelona. pp. 21-25.
- Baroiller, J. F., Guiguen, Y., Fostier, A., 1999. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. C.M.L.S. (cellular and molecular life sciences). SS. pp. 910-930.
- Barragán, G., 1998. Análisis celular ovárico del pez vivíparo *Poecilia sphenops* en estado de madurez gonádica. U.N.A.M. Campus Iztacala. Tesis de Licenciatura en biología. México.
- Benítez, F., 1991. Estructura histológica de la gónada de los teleosteos. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, U.N.A.M. México.
- Blázquez, M., Piferrer, F., Zanuy, S., Carrillo, M., Donaldson, E. M., 1995. Development of sex control techniques for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L) aquaculture: effects of dietary 17 α -methyl testosterone prior to sex differentiation. *Aquaculture*, 135:359-342.
- Blázquez, M., Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M., Piferrer, F., 2002. Critical period of androgen-inducible sex differentiation in a teleost fish, the European sea bass. *Journal of Fish Biology*. Vol. 58. No. 2. Feb. pp. 342-358.
- Billard, R. A., 1982. Endocrin control of spermatogenesis in teleost fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* pp. 65-79.
- Borg, G., 1994. Androgens in teleost fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* 109C. pp. 219-248.

Bromley, P. J., Ravier, C., Witthames, P. R., 2000. The influence of feeding regime on sexual maturation, fecundity and atresia in first-time spawning turbot. *Journal of Fish Biology*. Vol. 5. No. 2 feb. pp. 264-278.

Caputo, V., Candi, G., La mesa, M., Arneri, E., 2000. Pattern of gonad maturation and the question of semelparity in the paedomorphic goby *Aphia minuta*. *Journal of Fish Biology*. Vol. 58. No. 3 mar. pp. 645-669.

Cárdenas, R. R., 1996. Regulación endocrina de la reproducción y el crecimiento en peces óseos. *Ciencia y desarrollo*. Nov-Dic. No. 131. México.

Carlisle, S. L., Millar, M., Canario, S. K., Oliveira, M., Carneiro, L., Grober, M. S., 2000. Effects of 11-ketotestosterone on genital papilla morphology in the sex changing fish *Lythrypnus dalli*. *Journal of Fish Biology*. Vol. 57. No. 2 Aug. pp. 445-456.

Carrillo, M., Blázquez, M., Zanuy, S., Piferrer, F., 1999. Sex ratios in offspring of sex-reversed sea bass and the relationship between growth and phenotypic sex differentiation. *Journal of Fish Biology*. Vol. 55. No. 5. nov. pp. 916-930.

Chaumeton, H., 1991. *Guía de los peces de Acuario*. Ed. Omega, Barcelona, España. p. 6,108.

Cochran, C. R., 1992. In vivo and in vitro evidence for the role of hormones in fish spermatogenesis. *The Journal of Experimental Zoology*. 216:143-150.

Collins, P. M., O'Neill, D. F., Barron, B. R., Morre, R. K., Shewood, N. M., 2002. Gonadotropin-Releasing Hormone Content in the Brain and Pituitary of Male and Female Grass Rockfish (*Sebastes rastrelliger*) in Relation to Seasonal Changes in Reproductive Status. *Biology of Reproduction*. 65:173-179.

Covaco, J. E., Van Ball, J., Van Dijk, W., Hassing, G. A. M., Goss, H. J., Schulz, R. W., 2001. Steroid Hormones Stimulate Gonadotrophs in Juvenile Male African Catfish (*Clarias gariepinus*). *Biology of Reproduction*. 64:1358-1365.

Feist, G., Yeoh, Ch., Fitzpatrick, M. S., Shreck, C. B., 1995. The production of functional sex-reversed male rainbow trout with 17α -methyl testosterone and 11β -hidroxyandrostenedione. *Aquaculture*. 131:145-152.

Fuentes, P. A., Márquez, E. A., 1994. Inducción sexual en peces de la familia Poeciliidae con el uso de la hormona 17α -Metiltestosterona. XVIII Simposium de Biología de Campo. XI Coloquio Estudiantil de 3º etapa. U.N.A.M. ENEP Iztacala, México.

Fuentes, P. A., 1998. Uso de la hormona 17α -metiltestosterona en la obtención de poblaciones monosexo en peces cola de espada *Xiphophorus helleri*, (poeciliidae). Tesis de licenciatura en Biología, ENEP Iztacala, U.N.A.M., México.

Guerrero, R. D., 1975. Use of androgen for the production of all male *Tilapia aurea*. *Trans. A. Fish. Soc.* 104:324-348.

Hassin, S., Claire, M., Holland, H., Zohar, Y., 2000. Early maturity in the male striped bass, *Morone saxatilis*: Follicle-Stimulating hormone and luteinizing hormone gene expression and their regulation by gonadotropin releasing hormone analogue and testosterone. *Biology of Reproduction*. 63: 1691-1697.

Heifman, G. S., Collette, B. B. Facey, D., 1997. The diversity of Fishes. Edit. Blackwell Science. U.S.A. pp. 352-353.

Jirotkul, M., 2000. Male trait distribution determined alternative mating tactics in guppies. *Journal of Fish Biology*. Vol. 56. No. 6 jun. pp. 1427-1434.

Jones, C. L. W., Kaiser, H., Webb, G. A., Hecht, T., 1998. Filial Cannibalism in the sword tail *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquarium Science and Conservation*. 2: 79-86.

Junqueira, L. C., 1991. *Histología básica*. 3ª Edición, Salvat, México. pp. 3-6

Krisfalusi, M. Nagler, J. J., 2000. Introduction of gonadal intersex in genotypic male rainbow trout (*Onchorrhynchus mykiss*) embryos following immersion in estradiol -17 β . *Molecular Reproduction and Development*. 56:495-501.

Lagler, K., 1984. *Ictiología*. AGETEDECTOR, México. pp. 40, 89-91.

Lone, K. P., Al-Ablani, S., Al-Yaqout, A., 2002. Steroid hormone profiles and correlative gonadal histological changes during natural sex reversal of

sobaity kept in tanks and sea-cages. *Journal of Fish Biology*. Vol. 58. No. 2 feb. pp. 305-324.

Lozano, J. A., 1996. *Bioquímica para ciencias de la salud*. Edit. Interamericana-McGraw Hill, España.

Márquez, A., 1999. Inducción sexual en peces *Xiphophorus helleri* (poeciliidae) a través de la administración de la 17α -Metiltestosterona y de Dietiletilbestrol en el alimento. U.N.A.M. Campus Iztacala, Tesis de Maestría, México.

Meiard, C., 1995. Production of a high percentage of male offspring with 17α -ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. i. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudo females. *Aquaculture*. 130:25-34.

Merry J. W., 2001. Preference for symmetry in swordtail fish. *Animal Behavior*. 55:33-39.

Mills, D., 1991. *Guía del acuario*. Edit. OMEGA, Barcelona. pp. 8,68.

Morris, M. R., 1998. Further examination of female preference for vertical bars in swordtails: preference for no bars in a species without bars. *Journal of fish biology*. 53:56-63.

Mylonas, C., Scott, A. P., Zohar, Y., 1997. Plasma Gonadotropin II, Sex steroids, and Thyroid Hormones in wild Striped Bass (*Morone saxatilis*)

during permeation and final oocyte maturation. *General and Comparative Endocrinology*. 108:223-236.

Nikolsky, G. V., 1963. *The ecology of fishes*. Edit. Academy Press. London. p. 160

Noian, M., Jobling, I., Brighy, G., Sumpter, J. P. Tyler, C. R., 2001. A histological description of intersexuality in the roach. *Journal of Fish Biology*. Vol. 58. No. 1 feb. pp. 160-176.

Pandian, T. J., Sheela, S. G., 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture*. 138:1-22.

Park, I. S., Zhang, C. I., Lee, Y. D., 2001. Sexual dimorphism in morphometric characteristics of cocktail wrasse. *Journal of Fish Biology*. Vol. 58. No. 6 jun. pp. 1746-1749.

Peña, A. F., 1996. Obtención de una población monosexo (hembras) de *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848) mediante la administración de Dietilestilbestrol en el alimento a hembras grávidas. U.N.A.M Campus Iztacala, Tesis de licenciatura en Biología. México.

Robers, F. E. M., Hassing, G. A. M., Zandbergen, M. A., Goss, H. J. Schulz, R. W., 2000. Regulation of Steady-State luteinizing hormone messenger ribonucleic acid levels, de novo synthesis, and release by sex steroids in primary pituitary cell cultures of male African catfish, *Clarias gaerlepinus*. *Biology of Reproduction*. 62:864-872.

Rodríguez, G. M., 1989. Técnicas de Evaluación Cuantitativa de la Madurez Gonádica en Peces. AGT Editores. p. 61.

Rosenthal, G., Evans, C. S., Miller, W. L., 1996. Female Performance for dynamic traits in the green sword tail *Xiphophorus helleri*. *Animal Behavior*. 51:811-820.

Santandreu, I. A., 1994. Effect of 17 α -methyl testosterone on growth and nitrogen excretion in masu salmon (*Onchorhynchus masou* Brevoort). *Aquaculture*. 124:321-333.

Schlötz, A., 1977. Los Peces de acuario. Edit. OMEGA, Barcelona. p. 96.

Sevilla, H. M. L., 1986. Introducción a la acuicultura. Edit. Continental. México. pp. 9-20.

Soosamma, K., Pandian, T. J., 1993. Masculinization of *Poecilia reticulata* by dietary administration of synthetic or natural androgen to gravid females. *Aquaculture*. 116:83-89.

Tavolga, W. N., 1949. Embryonic development of the Platy fish (Platy-poecilus), the Swordtail (*Xiphophorus*), and their hybrids. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. Vol. 94. No. 4. New York. pp. 206-211.

Trainor, B. C., Basolo, A. L., 2000. An evaluation of video playback using *Xiphophorus helleri*. *Animal Behavior*. Vol. 59. No. 1. pp. 83-89.

Tveiten, H., Johnsen, H. K., 2001. Thermal influences on temporal changes in plasma testosterone and oestradiol-17 β concentrations during gonadal recrudescence in female common wolsh. *Journal of Fish Biology*. Vol. 59. No. 1 jul. pp.175-178.

IZT.

Ya-Xiong T., 1993. Hormonal induction of precocious sex reversal in the rice field eel, *Monopterus albus*. *Aquaculture*. 118:131-140.

Yaron, Z., 1995. Endocrine control of gametogénesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*. 129:49-73.



U.N.A.M. CAMPUS