

Evaluación del efecto de la inmersión en soluciones de 17 α -metil testosterona y temperatura sobre la diferenciación sexual en embriones de *Betta splendens*

ARTÍCULO DE
INVESTIGACIÓN

Vilma Yolanda Gómez-Nieves¹, Alba Lucy Ortega-Salas¹, Julbrinner Salas-Benavides¹, Jorge Nelson López-Macias¹

¹ *Departamento de Recursos Hidrobiológicos,
Programa de Ingeniería en Producción
Acuícola, Universidad de Nariño, Pasto,
Colombia*

Yogoni45@gmail.com

(Recibido: 20 de Noviembre de 2014 Aprobado: 21 de Octubre de 2015)

DOI: 10.17151/vetzo.2015.9.1.1

RESUMEN: El proyecto fue desarrollado por el Grupo de Investigaciones en Acuicultura de la Universidad de Nariño (GIAC), en el laboratorio de Peces Ornamentales del programa de Ingeniería en Producción Acuícola, con el objetivo de evaluar los efectos de la inmersión en soluciones de 17 α -metil testosterona en concentraciones de 0,5 mg/L-1 y 1 mg/L-1 a temperaturas de 26°C y 31°C sobre la distribución de sexos en *Betta splendens*. Se utilizó un diseño irrestrictamente al azar (DIA), conformado por seis tratamientos y tres réplicas de la siguiente manera: T1: 0,5 mg/L-1 y 26°C; T2: 0,5 mg/L-1 y 31°C; T3: 1,0 mg/L-1 y 26°C; T4: 1,0 mg/L-1 y 31°C; T5: 0,0 mg/L-1 y 26°C y T6: 0,0 mg/L-1 y 31°C. El porcentaje de machos fue estadísticamente diferente a la distribución normal de sexos (1:1) con valores porcentuales de 68,9%, 66,7%, 44,5%, 75,0%, 27,3% y 70,4% en relación a las hembras de los tratamientos respectivos. En consecuencia, el mejor resultado en la masculinización de la especie en estudio se obtuvo con 1,0 mg/L-1 (MT) y temperatura de 31°C, estimada en proporción de sexos 3:1, existiendo una diferencia significativa ($p < 0,001$) cuando se compara con los demás tratamientos.

Palabras claves: andrógenos, dosis, hormona, reversión de sexo

Evaluation of the effect of immersion in solutions of 17- alpha methyl testosterone and temperature on the sexual differentiation of embryonic (*betta splendens*)

ABSTRACT: The project was developed by the Aquaculture Research Group at Universidad de Nariño (GIAC) in the Ornamental Fish laboratory of the Aquaculture Production Engineering program with the purpose of evaluating the effects of immersion in 17 α -methyl testosterone solutions at 0.5 mg/L-1 and 1 mg/L-1 with temperatures of 26°C and 31°C on *Betta splendens* sex distribution. An Unrestricted Random Sampling (URS) consisting of six treatments and three replicates was used as follows: T1: 0.5 mg/L-1 and 26°C; T2: 0.5 mg/L-1 and 31°C; T3 1.0 mg.L-1 and 26°C; T4 1.0 mg/L-1 and 31°C; T5: 0.0 mg/L-1 and 26°C; T6: 0.0 mg/L-1 and 31°C. The percentage of males was statistically different from the normal distribution of sexes (1:1) with percentage values of 68.9%, 66.7%, 44.5%, 75.0%, 27.3% and 70.4% in the respective treatments. As a consequence, the best result in masculinization of the studied species was obtained with 1.0 mg/L-1(MT) at a 31°C estimated in sex proportion 3:1, existing a significant difference ($p < 0.001$) when compared with other treatments.

Key words: androgen, dose, hormone, sex reversal

Introducción

Según Ramírez et al. (2010), de las más de 4 mil especies exóticas de peces de ornato que se comercializan a nivel mundial, la *Betta* se encuentra dentro de las veinte más vendidas en Colombia en los últimos años por lo que cada vez más su demanda sigue en crecimiento; sin embargo, se ha implementado una reglamentación restrictiva referente a la importación de peces ornamentales (Panne & Luchini, 2008). De otro lado, las investigaciones en la especie son limitadas y están relacionadas principalmente con la nutrición.

Los miembros de la familia Belontiidae, y en particular la especie *Betta splendens*, son interesantes para la acuariofilia debido a sus características de anatomía externa, fisiológicas y etológicas; sus ejemplares poseen una forma corporal alargada con los costados comprimidos y evidente dimorfismo sexual (Martínez, 2008).

Se considera que la mayor demanda de especímenes de esta familia pertenece a los machos, por lo que se justifica desarrollar tecnologías y protocolos para aumentar la producción de ejemplares monosexo machos.

En la década de 1930 se habló sobre la diferenciación sexual gonadal en tratamientos con esteroides exógenos en los peces; sin embargo, poder determinar que las variables ambientales influyen en la proporción de sexos en las especies gonocóricas es relativamente reciente.

La identificación del sexo en los peces implica aspectos genéticos y estímulos ambientales que pueden determinar temporal o permanentemente la proporción de sexos en este grupo taxonómico, provocando cambios en el sistema endocrino del organismo por medio de la “determinación ambiental del sexo”; la cual puede ser inducida por temperatura, salinidad, pH, fotoperíodo y nutrición (Salame, Méndez & Aguirre, 2008).

El sexo en peces está determinado genéticamente de forma definitiva. Factores externos como la temperatura, comportamiento social y la extirpación quirúrgica de las gónadas inducen a la reversión del sexo; así que puesto que el sexo fenotípico no se ha diferenciado este puede ser manipulado por administración de hormonas esteroides ya sea por suplementos alimentarios, por inmersión o por transferencia sistémica (Botero, Pineda y Gallego, 2010).

En los peces, al igual que en los reptiles y anfibios, el principal factor ambiental que influye en el sexo es la temperatura (*Sex determination temperature* = TSD); en la mayoría de las especies estenotermas (algunos aterínidos, poecílidos, cíclidos y siluriformes) la relación macho-hembra aumenta con la temperatura, mientras que la diferenciación de ovario es inducida por las bajas temperaturas. Por el contrario, en especies como *Dicentrarchus labrax* e *Ictalurus punctatus* las altas o bajas temperaturas pueden producir proporciones sexuales (géneros) sesgadas. En *Paralichthys olivaceus*, por ejemplo, las altas y bajas temperaturas inducen poblaciones monosexo masculinos; mientras que las temperaturas intermedias producen la proporción 1:1. El grupo piscis muestra particularidades en sus patrones TSD, por lo que las poblaciones de monosexo generalmente no se producen a temperaturas extremas, sugiriendo entonces la existencia de interacciones fuertes de temperatura y genotipo. En los réptiles, anfibios y peces que muestran TSD, los tratamientos de temperatura deben aplicarse en un período sensible crítico relativamente similar al período sensible de la hormona; en los peces gonocóristicos, las hormonas esteroides estrógenos en las hembras y en los machos andrógenos son pasos fisiológicos probablemente claves en la regulación de la diferenciación del sexo gonadal (Baroiller, D’Cotta & Saillant, 2009).

El estudio del efecto de temperaturas en la diferenciación sexual en individuos gonócricos implica la incubación de los huevos o la cría de alevinos a varias temperaturas. Hoar & Randall (1969) relataron que el *Salmo irideus*, criado a temperaturas de 17 a 20°C, no presentó la etapa femenina intermedia que había sido observada a una temperatura inferior de cría (8 a 13°C); los mismos autores sugieren que las altas temperaturas fueron la causa de la ausencia de la fase femenina (Hoar & Randall, 1969).

Según Ospina & Piferrer (2008), las especies que poseen TSD o especies con GSD (*Genotypic sex determination*) + TE (*Temperature*) pueden comprometer su viabilidad

al disminuir el número de hembras en respuesta inclusive a pequeños aumentos en la temperatura del agua.

Por su parte, uno de los agentes que puede contribuir a la producción de especies monosexo son las hormonas; las cuales son consideradas como mensajeros químicos intracelulares liberadas por tejidos específicos dentro del sistema endocrino tal como la glándula pituitaria. Los productos hormonales o xenoestrógenos, son disruptores endocrinos que interfieren en el ciclo hormonal natural y que tienen la capacidad de interferir en el funcionamiento correcto del eje neuroendocrino: hipotálamo-hipófisis-gónada (Pandian, 2003). De acuerdo a lo anterior, la presente investigación propuso evaluar el inductor hormona masculinizante 17 α -metil testosterona y la aplicación de variaciones térmicas con el fin de determinar su efecto sobre el incremento de la población de machos de la especie *Betta splendens* bajo condiciones de laboratorio.

Materiales y Métodos

El ensayo se realizó en el laboratorio de Peces Ornamentales del programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño, sede Torobajo, ubicada al Noreste de la ciudad de San Juan de Pasto, departamento de Nariño, con las siguientes coordenadas: latitud 1°09'16" Norte y longitud 77°08'25", altitud de 2510 m.s.n.m., temperatura media de 14°C, precipitación anual de 1118 mm y humedad relativa de 75%. Se evaluaron 36 reproductores, en proporción 1:1, obtenidos de distintas casas comercializadoras, con el fin de evitar la consanguinidad. En la conformación de parejas de *Bettas* se utilizaron características morfométricas equivalentes entre el macho y la hembra; relacionadas con la talla, peso y patrones de color; además de los caracteres sexuales secundarios específicos.

Los ejemplares se trasladaron al laboratorio de peces ornamentales y se sometieron a climatización durante 20 minutos, con el fin de garantizar la sobrevivencia y el bienestar de los individuos; posteriormente los animales se dejaron en cuarentena por quince días para observar la adaptabilidad, el comportamiento y el estado sanitario; agotada esta etapa se distribuyeron en forma aleatoria; conservando la relación 1:1, fenotipo y edad (5 y 6 meses); dispuestos en los seis tratamientos con tres replicas; cada unidad experimental estuvo situada en acuarios de capacidad 0,008 m³.

La hembra madura se identificó por el abdomen abultado y líneas verticales oscuras y poro urogenital expuesto. Una vez manifiestos los elementos de dimorfismo sexual se inició el proceso reproductivo con el acercamiento de los dos parentales (contacto visual); hecho que incentivó al macho a la construcción del nido en la superficie del agua sobre un sustrato artificial como soporte de 5 cm²; el nido físicamente se observó como un cúmulo de burbujas de aire de pequeño diámetro. El cortejo posterior se

evidenció por el despliegue de las aletas dorsal, anal y caudal en el macho, la expansión de los opérculos y finalmente la aceptación nupcial por parte de la hembra; este evento fue similar para todas las parejas del bioensayo con una duración de 15 a 20 minutos.

El proceso de desove duró 120 minutos aproximadamente y los huevos fertilizados (embriones) fueron recogidos, trasladados y ubicados por el macho en el nido; posterior al desove se procedió a separar la hembra para someterla a profilaxis mediante inmersión por un tiempo de cinco minutos en una solución acuosa de tetraciclina a razón de $0,5\text{g/L}^{-1}$ de agua y así evitar infecciones posteriores a causa de las agresiones recibidas durante el cortejo; al tiempo, los embriones se sometieron a dos inmersiones por 30 segundos con un intervalo de una hora entre cada procedimiento; la dosis de inmersión correspondió a una solución acuosa de metil testosterona en concentraciones diferenciales de acuerdo a los tratamientos, a saber: $500\ \mu\text{g/L}^{-1}$ en T1 y T2 y $1000\ \mu\text{g/L}^{-1}$ para T3 y T4. La evaluación de la temperatura a $26\pm 0,1^\circ\text{C}$ y $31\pm 0,1^\circ\text{C}$ como inductor de reversión sexual en la especie *Betta splendens* se mantuvo durante las fases de ontogénesis, larvicultura y alevinaje; para tal efecto se realizaron tres lecturas diarias durante el tiempo de la investigación a través de la prueba Kolmogorov-Smirnov $p=0,20$ y Shapiro-Wilk $p=1,0$; en consecuencia los datos de temperatura en los seis tratamientos se ajustan a la distribución normal (DN). Para alcanzar y mantener la temperatura en los tratamientos T1, T3 y T5 (en $26\pm 1^\circ\text{C}$) y los T2, T4, T6 (en $31\pm 1^\circ\text{C}$) se utilizaron termostatos automáticos sumergibles dispuestos individualmente en cada unidad experimental.

En el análisis de prueba de hipótesis se utilizó un diseño irrestrictamente al azar (DIA) conformado por seis tratamientos (T) y tres réplicas de la siguiente manera: T1: $0,5\ \text{mg/L}^{-1}$ y 26°C ; T2: $0,5\ \text{mg/L}^{-1}$ y 31°C ; T3: $0,5\ \text{mg/L}^{-1}$ y 26°C ; T4: $1,0\ \text{mg/L}^{-1}$ y 31°C ; T5: sin hormona y 26°C y T6: sin hormona a 31°C ; para tal efecto se aplicó la prueba de asociación entre variables cualitativas a través de la prueba Chi cuadrado de Pearson; en la verificación del comportamiento de la temperatura como variable independiente se aplicó la prueba de estadística inferencial distribución normal de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro-Wilk; ambas, ejecutadas en el programa IBM SPSS 20.

Resultados y Discusión

El mayor porcentaje de alevinos fenotípicamente machos de *Betta splendens* se definió en T4 ($1,0\ \text{mg/L}^{-1}$ y 31°C) con 75,0 puntos porcentuales, estimado en 21 individuos (200% más machos que hembras) (tabla 1).

Tabla 1. Cantidad de machos y hembras por tratamiento.

Tratamiento	# Machos	# Hembras
T1	31	14
T2	42	21
T3	53	66**
T4	21**	7
T5	6	16
T6	19	8

** Diferencia significativa $p < 0,01$.

Los resultados obtenidos en esta investigación señalan la existencia de una relación de dependencia significativa según Chi cuadrado de Pearson ($p=0,001$) entre las diferentes dosis hormonales de 17α -metil testosterona y el género de los alevinos de *Betta splendens*; así, entonces, se observó un 75,0% de machos entre los embriones sometidos a 1,0 mg/L-1y 31°C; el análisis señala igualmente que el sexo fenotípico de la especie depende en un 21,8% del sometimiento a hormonas esteroidogénicas (tabla 2 y 3). Esta correlación indica en segunda instancia que la concentración de 0,5 mg (MT) genera 121% más machos que hembras por tratamiento.

Tabla 2. Prueba Chi cuadrado. Contingencia género x hormona.

Género x Hormona		HORMONA						Total
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	
Género	Recuento	31	42	53	21	6	19	172
	Macho % dentro de Hormona	68,9	66,7	44,5	75,0	27,3	70,4	56,6
	Hembra Recuento	14	21	66	7	16	8	132
	Hembra % dentro de Hormona	31,1	33,3	55,5	25,0	72,7	29,6	43,4
Total	Recuento	45	63	119	28	22	27	304
	% dentro de Hormona	100	100	100	100	100	100	100

Tabla 3. Prueba Chi cuadrado.

Prueba estadística	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chicadrado de Pearson	26,057 ^a	5	,000
Razón de verosimilitudes	26,521	5	,000
Asociación lineal por lineal	1,321	1	,250
N de casos válidos	304		

^aCasillas (0,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 9,55.

La determinación del sexo por efecto de la temperatura actúa sobre la diferenciación sexual gonadal en un estadio embrionario específico o período termo sensible; de manera directa e indirecta. Ambos modelos se basan en la hipótesis hormonal de la diferenciación sexual gonadal, la cual indica que durante la diferenciación testicular se produce principalmente andrógenos; mientras que en la diferenciación de los ovarios prevalece la producción de estrógenos. En los peces el efecto de la temperatura no siempre produce poblaciones unisexo, sino que de acuerdo al gradiente térmico de incubación la proporción de sexos varía; mientras, en algunos casos, los porcentajes de hembras y machos pueden ser similares; siendo el caso de *Apistogramma* sp y *Poecilia melanogaster* (Maya, 2010).

Las bajas temperaturas favorecen en los peces, la producción de hembras; siendo similar en la presente investigación para el caso de los tratamientos T5, T3 y T1; para los cuales, evaluados con temperatura de 26°C, se obtuvieron resultados de 72,7%, 55,5% y 31,1%, respectivamente. Estos resultados concuerdan con los de Pandian (2015), quien afirma que en el ciprínido *Gnothodonca erulescens* al ser sometido a temperaturas entre 16,1°C y 25,4°C prevalecen las hembras; mientras que en condiciones de temperaturas más altas entre 20,5°C y 28, 2°C, predominan los machos. Sin embargo, existen casos en los que ocurre lo contrario, por ejemplo: en el caso del *Oreochromis mossambicus* y *O. aureus*, las temperaturas cercanas a los 30°C favorecen la producción de hembras; en este mismo sentido, la temperatura afecta la proporción sexual de *P. reticulata* tal como lo reportan Márquez & Mendoza (2008). En condiciones de laboratorio las características fenotípicas que definen el dimorfismo sexual de los peces de la especie *B. splendens* empiezan a manifestarse a partir de la tercera semana coincidiendo con la información reportada por Maya & Marañón (2001), quienes demostraron que el desarrollo del gonopodio como indicador de la diferenciación sexual en *Poecillia reticulata* inició en la semana tres de los juveniles mantenidos en el intervalo térmico de 30 a 32°C; mientras que los ejemplares sometidos a temperaturas entre 24 y 26°C inician el desarrollo entre la cuarta y quinta semana de edad, respectivamente.

La técnica de reversión sexual por inmersión hormonal de embriones a diferencia de la inducción tradicional, lograda mediante suministro de alimento con hormona, presenta como ventajas: la utilización de una menor cantidad de este inductor, ahorro en tiempo de sometimiento, menor mano de obra y disminución de efectos ambientales por la combinación y concentración de esteroides en el agua; representando así mayores beneficios económicos, medioambientales y productivos en la explotación intensiva de esta especie.

La reversión por inmersión de ovas registran una eficiencia del 88%, utilizando metil testosterona (MT) a razón de $800 \mu\text{g/L}^{-1}$ durante 96 horas (López et al., 2007). En contraste la inducción del sexo en *Salmon coho* mediante inmersión de huevos durante $514 \text{ grados/día}^{-1}$, con esta misma hormona, en concentración de $400 \mu\text{g/L}^{-1}$, estableció una población de 78% de machos (Neira, 2005).

En tilapia roja, la inmersión de ovas en el proceso de reversión no presentó diferencia significativa ($p > 0,05$) entre las concentraciones de $800 \mu\text{g/L}^{-1}$ y $1200 \mu\text{g/L}^{-1}$ de 17 (MT) con respecto a la concentración de $0 \mu\text{g/L}^{-1}$ de metil testosterona (MT); concordando con los resultados obtenidos por Botero, Pineda y Gallego, (2010) quienes concluyeron que la metil testosterona (MT) a concentraciones de 500 mg/L^{-1} no tiene efecto masculinizante; el factor que puede haber afectado los porcentajes bajos de reversión se atribuyen al tipo de hormona utilizada; los mismos autores establecen un mayor porcentaje de reversión con la utilización de metil dihidro testosterona (MDHT) en concentraciones de 500 mg/L^{-1} en comparación con (MT) en iguales cantidades; la afirmación anterior obedece a la conversión de (MT) a una forma menos activa o simplemente a una mayor velocidad de degradación en el organismo (Botero et al., 2010).

Los resultados de reversión sexual, por inmersión de embriones obtenidos en el presente trabajo con *B. splendens*, demuestran ($p < 0,05$) que la proporción de machos se aumenta cuando se utiliza $1,0 \text{ mg/L}^{-1}$ de 17α -metiltestosterona a temperatura de 31°C ; valores semejantes a los obtenidos por los mismos autores, quienes realizaron inmersión de ovas fertilizadas de *Oreochromis sp* en solución acuosa de 17α -metiltestosterona en concentraciones de 0, 1200, 1650 y $2100 \mu\text{g/L}^{-1}$ y observaron porcentajes de machos en 47%, 63,79%, 58,23% y 52,87%, respectivamente (Botero et al., 2010).

Según los resultados obtenidos por Kostas, Ioannis & Evangelia (2011), trabajando con 17α -metiltestosterona (MT) en cuatro concentraciones (1, 2, 3, y 4 mg/kg , de hormona en alimento) en alevinos de *B. splendens*, demostraron que al usar 3 y 4 mg/kg se presenta el 100% de masculinización en un período de ocho semanas; comparando este resultado con la presente investigación donde se obtuvo un 75% de machos con inmersión de ovas; siendo significativamente mayor; sin embargo, se deben tener en cuenta aspectos que influenciaron la rentabilidad de la producción a mediana y gran escala tales como la cantidad de hormonas y el período de sometimiento al inductor entre otros.

Según López et al. (2007) el bajo porcentaje de reversión se debe a que el período de indiferenciación en la morfogénesis llega hasta los 15 días después de la eclosión. La prevalencia de este período ontogénico de mayor sensibilidad a las dosis hormonales ha sido verificado en diversas especies tales como los salmones (*Oncorhynchus kisutch*) (Carrillo, 2009), en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Bombardelli & Hayashi, 2005) y en (*Oryzias latipes*) (Botero et al., 2010).

El uso de la hormona 17 α -metil testosterona, para la reversión sexual de especies acuáticas por inmersión, presenta algunas ventajas frente al método oral (inclusión en el alimento); las concentraciones son significativamente menores, 1,0 mg/L⁻¹ de agua en esta investigación, en comparación a 60 mg/kg⁻¹ dosis estándar usada en el alimento para tilapia; lo cual facilitará el manejo y el control de los residuos hormonales.

Se sugiere para futuras investigaciones aumentar el tiempo de inmersión de las ovas de *Betta splendens* para optimizar la eficiencia porcentual en la reversión monosexo y realizar estudios comparativos de resultados por el suministro oral de la hormona en estos peces laberíntidos.

En cuanto al análisis parcial de costos, la mayor relación costo-beneficio se registró en el tratamiento T3, 1,0 mg/L⁻¹ y 26°C; con un indicador de 2,40 pesos; de esta manera, por cada peso invertido, se obtendrá 2,40 pesos; esto se debe a la mayor sobrevivencia de machos y hembras en este tratamiento, lo cual permite obtener un mayor ingreso económico (tabla 4).

Tabla 4. Resumen análisis parcial de costos.

Relación Beneficio / Costo - Costos Variables	
Tratamiento 1	1,06
Tratamiento 2	1,46
Tratamiento 3	2,40
Tratamiento 4	0,68
Tratamiento 5	0,39
Tratamiento 6	0,64

Conclusiones

Existe dependencia significativa ($p=0,001$) en la reversión fenotípica del macho *Betta splendens* en la dosis hormonal de 17 α -metil testosterona y temperatura.

La dosis hormonal efectiva en la masculinización de esta especie de ornato es 1,0 mg/L⁻¹(MT) y una temperatura de 31°C.

Las concentraciones de 0,5 mg/L⁻¹(MT), temperatura de 31°C y 1,0 mg/L⁻¹(MT), en condición térmica de 26°C, generan respectivamente 2,2 y 3 machos por cada hembra conseguida por ontogénesis inducida en la especie.

El análisis parcial de costos determina una mayor relación costo-beneficio en T3: 1,0 mg/L⁻¹ y 26°C; con una relación beneficio - costo de 2,40 pesos.

Agradecimientos

Vicerrectoría de Investigaciones, Posgrados y Relaciones Internacionales de la Universidad de Nariño por la financiación de esta investigación, según el Acuerdo No.181, dentro de la Convocatoria de Investigación Docente 2012.

Referencias bibliográficas

Baroiller, J.F.; D’Cotta, H.; Saillant, E. Environmental effects on fish sex determination and differentiation. **Sex Dev.**, v. 3, n. 2-3, p. 118-135, 2009.

Bombardelli, R.; Hayashi, C. Masculinização de Larvas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a Partir de Banhos de Imersão com 17 a-metiltestosterona. **R. Bras. Zootec.**, v. 34, n. 2, p. 365-372, 2005.

Botero, M.; Pineda, J.; Gallego, N. Inmersión de ovas de tilapia roja (*Oreochromis spp*) en diferentes estadios de fertilización en una solución de 17 α-metiltestosterona y la proporción fenotípica del sexo. **Rev. Colomb. de Cien. Pec.**, v. 24, p. 38-47, 2010.

Carrillo, M. **La reproducción de peces. Aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura.** Madrid, España: Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente, 2009. 719p.

Hoar, W.& Randall, D. (Ed.). **Fish Physiology.** London& New York: Academic Express, 1969. 485p.

Kostas, K.; Ioannis, P.; Evangelia, G. Masculinization of the ornamental Siamese fighting fish with oral hormonal administration. **Science Asia**, v. 37, p. 277-280, 2011.

López, C.; Carvajal, D.; Botero, M. Masculinización de tilapia roja (*Oreochromis spp*) por inmersión utilizando 17 alfa-metiltestosterona. **Rev. Colom. Cien. Pec.**, v. 20, n. 30, p. 318-326, 2007.

Márquez, J. et al. Reproduction of the fish *Poeciliopsis gracilis*(Cyprinodontiformes: Poeciliidae) in Coatetelco, a tropical shallow lake in Mexico. **Rev. Biol. Trop.**, v. 56, n. 4, p. 1801-18012, 2008.

Martínez, I. Comportamiento agresivo en el pez luchador de Siam (*Betta splendens*). **Anales Universitarios de Etología**, v. 2, p. 98-105, 2008.

Maya, E. Manipulación del sexo en los peces ornamentales y comestibles una estrategia para la producción intensiva y la conservación en pequeñas unidades de producción acuícola. **Acuicultura y Desarrollo Integral**, p.2-52, 2010

Maya, E.; Marañón, S. **Efecto de la temperatura sobre la proporción sexual de (*Poecillia reticulata*)**. Peter, 1859 (Pisces: Poeciliidae).2001. Hidrobiologica 2001, 11(2): 157-162

Neira, D. Biotecnología aplicada a la acuicultura. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 32, n. 1, p. 45-59, 2005.

Ospina, N.; Piferrer, F. **Temperature-Dependent Sex Determination in Fish Revisited** *Institute ciencis del mar*, 2008. Disponible en: <http://www.plosone.org/ar>. Accesado en: 21/06/2014

Pandian, P.K.S. **Sustainable aquaculture: Global perspective**. Philadelphia, EE.UU: The Haworth Press, 2003. 365p.

Panné, S.; Luchini, L. **Panorama actual del comercio internacional de peces ornamentales**, 2008. Disponible en:

http://www.agroindustria.gob.ar/site/pesca/acuicultura/06_Publicaciones/_archivos/081110_Panorama%20actual%20de%20comercio%20internacional%20de%20Peces%20Ornamentales.pdf

Accesado : 21/05/2014

Ramírez, M.; Mendoza, A.; Aguilera, G. Estado actual y perspectivas de la producción y comercialización de peces de ornato en México. **Ciencia Pesquera**, v. 19, n. 2, p. 87-88, 2011.

Salame, A.; Méndez, F.; Aguirre, G.S. Disrupción Endocrina de la Diferenciación Sexual. **Contacto S**, v. 70, p. 43-49, 2008.

Gómez-Nieves, V.Y.; Ortega-Salas, A.L.; Salas-Benavides, J.; López-Macías, J.N. Evaluación del efecto de la inmersión en soluciones de 17 α -metil testosterona y temperatura sobre la diferenciación sexual en embriones de *Betta splendens*. *Veterinaria y Zootecnia*, v.9, n.1, p.64-75, 2015. DOI: 10.17151/vetzo.2015.9.1.1. Disponible en: <http://200.21.104.25/vetzootec/index.php?option=com_content&view=article&id=156>

Esta obra está bajo una [Licencia de Creative Commons Reconocimiento CC BY](#)

