

Efecto anabólico y androgénico del esteroide acetato de trembolona en el guppy (*Poecilia reticulata*)

Anabolic and androgenic effect of steroid trenbolone acetate on guppy (*Poecilia reticulata*)

Héctor Salgado Zamora* Aída Azpeitia Hernández**
Samuel Marañón Herrera** Eduardo Maya Peña**

Abstract

The effect of semi-synthetic steroid trenbolone acetate (TBA) on the ornamental fish *Poecilia reticulata* (guppy) was studied. The steroid at a dose of 300 mg/kg feed was administered to 30 days old juvenile specimens during 60 days. Forty days after treatment was ended, an evaluation aimed to determine the steroid residual effect was undertaken. Survival, masculinization ratio and the drug anabolic effect were analyzed. Results showed TBA to be effective to induce masculinization, differing ($P < 0.001$) with the control group, which registered 32% males and 68% females. TBA turned out to be an excellent anabolic as well, since treated fish showed weight increase, a larger body and an increased size of caudal fin. The steroid did not cause any damage on the treated population. The survival factor was 93.3% for the treated fish as compared to 83% for the control group.

Key words: ANABOLIC STEROID, ORNAMENTAL FISH, GUPPY, *POECILIA RETICULATA*, MASCULINIZATION.

Resumen

Se investigó el efecto del esteroide semisintético acetato de trembolona (ATB) en el pez de ornato *Poecilia reticulata* (guppy). Especímenes juveniles de 30 días de edad fueron tratados con el esteroide a dosis de 300 mg/kg de alimento durante 60 días. Al término del tratamiento, 40 días después, se estimó el efecto residual del esteroide. Se analizó la sobrevivencia, la proporción de peces masculinizados, así como el efecto anabólico. Los resultados indicaron que el ATB es eficaz para inducir la masculinización, a diferencia del grupo testigo, donde se registraron 32% de machos. Asimismo, el ATB tuvo un efecto anabólico, ya que los peces tratados mostraron mayor peso y talla e incremento de la aleta caudal. El esteroide no causó daño en la población tratada, al sobrevivir 93.3% de los peces, comparado con 83% del grupo testigo.

Palabras clave: ESTEROIDE ANABÓLICO, PEZ ORNAMENTAL, GUPPY, *POECILIA RETICULATA*, MASCULINIZACIÓN.

Recibido el 14 de febrero de 2007 y aceptado el 23 de abril de 2008.

*Departamento de Química Orgánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación de Carpio esq. Plan de Ayala, Col. Casco de Santo Tomás, 11340, México, D. F.

**Laboratorio de Sistemas Acuícolas, Departamento El Hombre y su Ambiente, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, 04960, México, D. F.

Introduction

The guppy (*Poecilia reticulata*) is one of the most appreciated ornamental fish for its morphological traits, reproduction and easy management, as well as for not requiring vast areas for its culture and for its relative low production cost, in relation to culture of other fishes.¹

The guppy commercial production in controlled spaces has allowed the creation of an industry whose profits reach several million dollars.^{2,3} In some countries, such as Singapore, intensive aquaculture projects have been developed, where the guppy has been the main culture fish, for its production volume and amount of currency which generates.⁴

Sex reversal is used to investigate mechanisms related with sex determination and gonad differentiation in fishes.⁵⁻⁷ At the same time, it is a useful tool for increasing benefits derived from aquaculture, since monosexual populations provide traits which increase productivity.⁸

In the guppy, males develop more flashy secondary sexual traits than females, which makes them more valued than females;^{4,7} therefore, a production strategy would be to induce fish into male sex.¹

For some time, the use of steroids has been known to modify sex in ornamental fish. In particular, guppy has been masculinized by the use of 17 α -methyltestosterone steroid,^{6,9-12} 11-ketotestosterone¹³ and androstenedione.¹⁴

On its own, trenbolone acetate (TBA) has been applied as masculinizing agent with an effectiveness greater than 90% in channel catfish (*Ictalurus punctatus*),^{15,16} blue tilapia (*Oreochromis aureus*)¹⁷ and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).¹⁸ In these studies there are no reports in relation to any anabolic activity induced by the steroid.

TBA is a synthetic steroid with hormonal activity similar to testosterone, but with a major anabolic activity¹⁹ and it has been successfully used in poultry, bovine, porcine and livestock. It is considered an anabolic sexual hormone according to Hoffman and Evers.²⁰

The objective of the present study was to determine the anabolic and androgenic effect of trenbolone acetate in juvenile specimens of *Poecilia reticulata*, as strategy to add major economical and income value to its culture.

Material and methods

Guppy juvenile specimens, king cobra variety, from 30 \pm 1 day of age obtained under laboratory conditions were used; they were maintained in three aquariums

Introducción

El guppy (*Poecilia reticulata*) es uno de los peces de ornato más apreciado por sus características morfológicas, reproducción y fácil manejo, así como por no requerir de extensiones grandes de terreno para su cultivo y porque su costo de producción es relativamente bajo, con respecto al cultivo de otros peces.¹

La producción comercial del guppy en espacios controlados ha permitido la creación de una industria cuyas ganancias ascienden a varios millones de dólares anuales.^{2,3} En algunos países, como Singapur, se han desarrollado proyectos de acuicultura intensiva; ahí el guppy es el principal pez de cultivo, por el volumen de producción y la cantidad de divisas que genera.⁴

La inversión sexual es utilizada para investigar los mecanismos relacionados con la determinación del sexo y diferenciación de las gónadas en peces.⁵⁻⁷ Al mismo tiempo, es una herramienta útil para aumentar los beneficios derivados de la acuicultura, ya que las poblaciones monosexuales proveen características que incrementan la productividad.⁸

En el guppy, los machos desarrollan caracteres sexuales secundarios más llamativos que las hembras, lo que los cotiza mejor que éstas;^{4,7} por tanto, una estrategia de producción será inducir los peces al sexo masculino.¹

Desde hace tiempo se conoce el empleo de esteroides para modificar el sexo en los peces de ornato. En particular, el guppy ha sido masculinizado por el uso del esteroide 17 α -metiltestosterona,^{6,9-12} 11-cetotestosterona¹³ y androstendiona.¹⁴

Por su parte, el acetato de trenbolona (ATB) se ha aplicado como agente masculinizante con eficacia mayor de 90% en el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*),^{15,16} tilapia azul (*Oreochromis aureus*)¹⁷ y tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).¹⁸ En estos trabajos no existen informes respecto de alguna actividad anabólica inducida por el esteroide.

El ATB es un esteroide sintético con actividad hormonal similar a la testosterona, pero con mayor actividad anabólica¹⁹ y se ha empleado con éxito en forma comercial en las industrias avícola, bovina, porcina y pecuaria. Se le considera como hormona sexual anabólica, según Hoffman y Evers.²⁰

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto anabólico y androgénico del acetato de trenbolona en especímenes juveniles de *Poecilia reticulata*, como estrategia para agregarle mayor valor económico y rentabilidad a su cultivo.

of 40 L, at $25 \pm 1^\circ\text{C}$, with saturation oxygen concentration of 6.6 mg/L and pH of 7.0 ± 0.5 .

The experiment consisted of a completely randomized design based on two experimental groups, with or without steroid, each treatment was done by triplicate with 45 fish, corresponding 15 per aquarium. TBA at 300 mg/kg of commercial food was used, incorporated by alcohol evaporation.²¹ Feed preparation of the control group was done with the same procedure (including alcohol), but without the steroid.

The experiment lasted 100 days and it was done in two periods: in the first one, fish were subjected to TBA administration for 60 days, and the second one, in order to determine the residual effect, they were fed for 40 days with free steroid food.

Each week, morphometric parameters were recorded: total body length (BL), measuring from the start of the mouth to the base of the caudal fin; caudal fin length (CFL), from the base of the caudal fin to its end; height (H), from the anal fin to the base of the dorsal fin, and weight (W). The length measurements were made with a vernier** (± 0.01 cm) and weight with a digital scale*** (± 0.001 g). Sex was determined at the end of the first period by anal fin recognition, modified in males as gonopodium.²²

The effectiveness of TBA was determined for each of the experimental periods with the following indicators: *a*) survival, *b*) masculinization, *c*) fish growth, estimated at two levels: punctually, with BL, CFL, H and W; according to functions: specific growth rate: ($\text{SGR} = \text{final weight} - \text{initial weight} / \text{time} \times 100$), and caudal fin proportion in relation to body length (CFPBL).

Statistical analysis

To estimate the differences between sex proportion, a chi square with Yates correction was done.²³ The survival records for each of the treatment repetitions were transformed into an arcsine function for binomial data expressed as fractions,²⁴ next a two factor (experimental and period groups) analysis of variance was applied. Growth was analyzed in the following way: Bartlett's test was used to prove the homogeneity of the variances of: BL, CFL, H, W, SGR and CFPBL; if resulting significant ($P < 0.05$), a logarithm transformation was done, later an analysis of variance was performed to determine differences between groups, if resulting significant ($P < 0.05$), it was estimated between which groups by Tukey test.²⁴ Finally, to determine the growth of the fish while passing from the first to the second experimental period, the increment, in percentage, of each variable was estimated and afterwards the same procedure for the growth variables was performed.

Material y métodos

Se emplearon especímenes juveniles de guppy, variedad king cobra, de 30 ± 1 días de edad, que fueron obtenidos en condiciones de laboratorio; se les mantuvo en tres acuarios de 40 L, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, con concentración de oxígeno a saturación de 6.6 mg/L y pH de 7.0 ± 0.5 .

El experimento consistió en un diseño completamente aleatorio con base en dos grupos experimentales, con y sin esteroide; cada tratamiento se realizó por triplicado con 45 peces, correspondiendo 15 por acuario. Se utilizó ATB a 300 mg/kg de alimento comercial,* que fue incorporado mediante evaporación de alcohol.²¹ La preparación del alimento del grupo testigo se realizó con el mismo procedimiento (incluyendo el alcohol), pero sin el esteroide.

La duración del experimento fue de 100 días y se realizó en dos periodos: en el primero, los peces fueron sometidos durante 60 días a la aplicación del ATB, y en el segundo, para evaluar el efecto residual, fueron alimentados durante 40 días con alimento libre de esteroide.

Cada semana se registraron los parámetros morfométricos: longitud total del cuerpo (LC), midiendo desde el inicio de la boca a la base de la aleta caudal; longitud de la aleta caudal (LAC), de la base de la aleta caudal hasta su terminación; altura (A), de la aleta anal hasta la base de la aleta dorsal y peso (P). Las mediciones en longitud se realizaron con un vernier** (± 0.01 cm) y el peso con una balanza digital*** (± 0.001 g). El sexo se determinó al finalizar el primer periodo mediante el reconocimiento de la aleta anal, modificada en los machos como gonopodio.²²

La eficacia del ATB se determinó para cada uno de los periodos experimentales con los indicadores siguientes: *a*) sobrevivencia, *b*) masculinización, *c*) crecimiento de los peces, estimado a dos niveles: en forma puntual, con LC, LAC, A y P; de acuerdo con las funciones: tasa específica de crecimiento: ($\text{TEC} = \ln \text{peso final} - \ln \text{peso inicial} / \text{tiempo} \times 100$), y proporción de la aleta caudal en relación con la longitud del cuerpo (PACLC).

Análisis estadístico

Para estimar las diferencias entre la proporción de sexos, se realizó una prueba de Ji cuadrada con la corrección de Yates.²³ Los registros de sobrevivencia para cada una de las repeticiones de los tratamientos fueron transformados a una función arcoseno para datos binomiales expresados como fracciones,²⁴ a con-

*Wardley®, Estados Unidos de América.

**Scala, Estados Unidos de América.

***Mettler, China.

Results

At the end of the first period of evaluation, TBA was effective to induce masculinization of the guppy, contrasting with the sex proportion of fish from the control group. Chi square test indicated significant differences in male proportion between the control group and the treated fish ($P < 0.001$). Survival of 91.2% which was higher than the one of fish that did not received the steroid (82.2%), showed that TBA did not affect the treated fish, the analysis of variance indicated that there are no significant differences ($P > 0.05$) due to treatment, experimental period, nor treatment-experimental period interaction.

Results of the second period showed presence of 32% of intersexual fish, from the total of masculinized fish in the first period, since secondary sexual traits of both sexes were recorded; consequently, male proportion decreased ($P < 0.01$); this condition was not seen in treated fish, since survival stayed the same. While the control group had a slight drop in survival (75.6%), but did not differ significantly ($P > 0.05$) in relation to the first period registry.

Table 1 describes the steroid effect on the growth of guppy during both experimental periods, in the first one it is noted that TBA manifested its anabolic activity recording superior values in masculinized fish than in control group males, standing out SGR and CFPBL, the difference was 84.6% and 74.4%, respectively.

The analysis of variance determined significant differences ($P < 0.01$) in all variables, being control group female values superior than the ones of males from the same experimental group and than the ones of treated fish with TBA. Tukey test showed that females differ ($P < 0.03$) in all the analyzed variables, with exception ($P > 0.05$) of CFPBL of control group males and CFL of masculinized males. While the differences ($P < 0.05$) among males of both treatments limit to CFL, CFPBL and mostly, SGR.

In the second period masculinized males continued growing, but not at the same rate as in the first period, while the control group males had an outstanding growth by recording similar values to the females of the same experimental group, and in contrast to the first period, the SGR was similar in the three experimental groups. The analysis of variance determined differences ($P < 0.05$) only in the four morphometric variables, indicating that there were no differences in the Tukey test ($P > 0.05$) between males and females of the control group, but both differed ($P < 0.05$) with treated males with TBA, with exception ($P > 0.05$) of the control group males' weight.

Figure 1 shows the increment, in percentage, of the growth fish variables passing from the first to

continuación se aplicó un análisis de varianza de dos factores (grupos experimental y periodo). El crecimiento se analizó de la siguiente forma: se utilizó la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de las varianzas de: LC, LAC, A, P, TEC y PACLC; de resultar significativa ($P < 0.05$), se realizaba una transformación logarítmica, posteriormente se les aplicaba un análisis de varianza para estimar diferencias entre los grupos, de resultar significativa ($P < 0.05$), se determinaba entre qué grupos por la prueba de Tukey.²⁴ Por último, para estimar el crecimiento de los peces al pasar del primero al segundo periodo experimental, se evaluó el incremento, en porcentaje, de cada variable y posteriormente se les aplicó el mismo procedimiento para las variables de crecimiento.

Resultados

Al finalizar el primer periodo de evaluación, el ATB fue eficaz para inducir la masculinización del guppy, contrastando con la proporción de sexos de los peces del grupo testigo. La prueba de Ji cuadrada indicó diferencias significativas en la proporción de machos entre el grupo testigo y los peces tratados ($P < 0.001$). El ATB no afectó a los peces tratados al registrarse sobrevivencia de 91.2%, que fue mayor a la de los peces que no recibieron el esteroide (82.2%), el análisis de varianza indicó que no existían diferencias significativas ($P < 0.05$) debido al tratamiento, al periodo experimental ni a la interacción tratamiento-periodo experimental.

Los resultados del segundo periodo indicaron presencia de 32% de peces intersexuales, del total de peces masculinizados en el primer periodo, al registrarse características sexuales secundarias de ambos sexos; como consecuencia, disminuyó la proporción de machos ($P < 0.01$); esta situación no repercutió en los peces tratados al mantener la misma sobrevivencia. Mientras que el grupo testigo tuvo un ligero descenso de la sobrevivencia (75.6%), pero no difirió significativamente ($P < 0.05$) con respecto al registro del primer periodo.

En el Cuadro 1 se describe el efecto del esteroide sobre el crecimiento del guppy en los dos periodos experimentales, en el primero se advierte que el ATB manifestó su actividad anabólica al registrarse valores superiores en los peces masculinizados que en los machos del grupo testigo, sobresaliendo la TEC y la PACLC, la diferencia fue de 84.6% y 74.4%, respectivamente.

El análisis de varianza determinó diferencias significativas ($P < 0.01$) en todas las variables, siendo los valores de las hembras del grupo testigo superiores a la de los machos del mismo grupo experimental y al de los tratados con ATB. La prueba de Tukey indicó que

the second periods, with exception of weight which was the variable with greater growth by recording an increment of 245 and 87% for control group males and masculinized, respectively; while control group females had 65.3%. The rest of the variables showed that control group males were the ones with the greater growth, with the exception of CFL of the masculinized males. Also, in this last treatment decreases in CFPBL and in SGR, as well as females in this last variable were recorded.

The analysis of variance, for growth increment, determined differences ($P < 0.03$) in all variables, indicating, in Tukey test, that control group males and masculinized differed ($P < 0.01$) in all variables, with exception of CFL ($P > 0.05$). The contrast between males and females of the control group shows a similar pattern, while differing ($P < 0.01$) in all variables, with the exception of CFPBL ($P > 0.05$). While masculinized males and females from the control group differ ($P < 0.01$) in CFL, CFPBL and SGR.

Discussion

According to Reznick,²⁵ manifestation of the attributes of *P. reticulata* are a casual relation or an energetic trade, thus the increment of one of the life cycle components is in inverse proportion to the drop of other,

las hembras difieren ($P < 0.03$) en todas las variables analizadas, con excepción ($P > 0.05$) de la PACLC de los machos del grupo testigo y la LAC de los machos masculinizados. Mientras que las diferencias ($P < 0.05$) entre los machos de ambos tratamientos se limitan a la LAC, PACLC y, sobre todo, a la TEC.

En el segundo periodo los machos masculinizados continuaron creciendo, pero no en la misma proporción que en el primer periodo, mientras que los machos del grupo testigo tuvieron crecimiento sobresaliente al registrar valores similares a las hembras del mismo grupo experimental y, a diferencia del primer periodo, la TEC fue similar en los tres grupos experimentales. El análisis de varianza determinó diferencias ($P < 0.05$) únicamente en las cuatro variables morfométricas, indicando la prueba de Tukey que no había diferencias ($P > 0.05$) entre los machos y las hembras del grupo testigo, pero ambos diferían ($P < 0.05$) con los machos tratados con ATB, con excepción ($P > 0.05$) del peso de los machos del grupo testigo.

En la Figura 1 se muestra el incremento, en porcentaje, de las variables del crecimiento de los peces al pasar del primero al segundo periodos, con excepción del peso, que fue la variable con mayor crecimiento al registrar un incremento de 245 y 87% para los machos del grupo testigo y los masculinizados, respectivamente; mientras las hembras del grupo testigo

Cuadro 1

INDICADORES DEL CRECIMIENTO DE *Poecilia reticulata* DEBIDO A LA APLICACIÓN DEL ACETATO DE TREMBOLONA PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTANDAR
GROWTH INDICATORS OF *Poecilia reticulata* DUE TO THE ADMINISTRATION OF TRENBOLONE ACETATE AVERAGE \pm STANDARD ERROR

Treatments	Variables	Control		Treatment
		♀	♂	♂
	60 days			
	Body length (mm)	17.19 \pm 3.79 ^a	12.45 \pm 0.90 ^b	13.50 \pm 1.56 ^b
	Caudal fin length (mm)	6.64 \pm 1.64 ^a	5.55 \pm 0.85 ^b	6.76 \pm 1.29 ^a
	Height (mm)	3.94 \pm 0.95 ^a	2.79 \pm 0.38 ^b	3.19 \pm 0.49 ^b
	Weight (mg)	14.49 \pm 7.16 ^a	5.49 \pm 1.01 ^b	7.61 \pm 2.53 ^b
	Caudal fin proportion in relation to the body (mm)	2.67 \pm 0.60 ^a	2.46 \pm 0.65 ^a	4.29 \pm 0.53 ^b
	Specific rate of growth (p.100/day)	0.028 \pm 0.700 ^a	0.013 \pm 0.003 ^b	0.024 \pm 0.006 ^c
	100 days			
	Body length (mm)	19.43 \pm 2.72 ^a	19.31 \pm 2.31 ^a	16.12 \pm 2.25 ^b
	Caudal fin length (mm)	8.34 \pm 1.88 ^a	8.10 \pm 1.77 ^a	10.23 \pm 1.45 ^b
	Height (mm)	5.00 \pm 0.80 ^a	5.17 \pm 0.75 ^a	4.10 \pm 0.67 ^b
	Weight (mg)	23.95 \pm 10.14 ^a	18.92 \pm 4.4 ^{ab}	14.23 \pm 4.85 ^b
	Caudal fin proportion in relation to the body (mm)	3.92 \pm 0.43 ^a	3.75 \pm 0.25 ^a	3.96 \pm 0.33 ^a
	Specific growth rate (p.100/day)	0.022 \pm 0.004 ^a	0.020 \pm 0.003 ^a	0.021 \pm 0.003 ^a

No significant differences between same letters ($P > 0.05$), significant differences between different letters ($P < 0.05$)

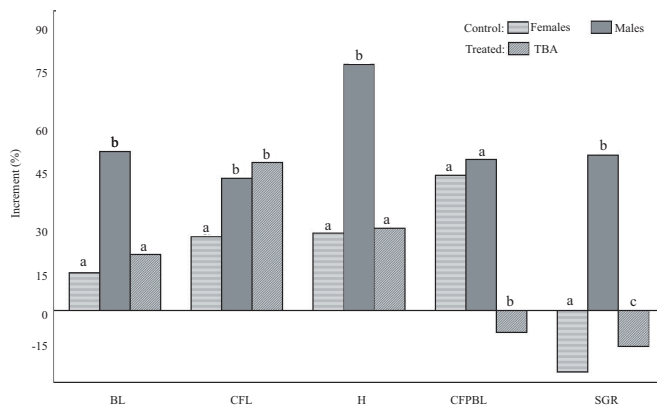


Figura 1: Crecimiento de los peces al pasar del primer periodo al segundo

Figure 1: Growth of fish while passing from the first to the second period.

such is the case of the growth and reproduction balance and this last in relation to survival. From this point of view, to establish the best TBA application strategy in the guppy its biological cycle would have to be known, above all the age at which it initiates its sexual activity, to associated with the growth pattern and impact caused by the steroid treatment. The result must guarantee the masculinization success, and desired shape and size.

The aforementioned has sense when considering that the available information is scarce; therefore, it is difficult to compare results here described to the ones obtained by other authors. For that reason, it was necessary to consider previous experiences,* which indicate that when the 2 ± 1 day old guppy is treated with TBA at the same concentration and period used in this study, 100% of masculinization and 84.4% of survival is obtained, but the body and caudal fin size is much smaller ($P < 0.001$) than fish treated at 30 ± 1 days. Nevertheless, after 100 days the percentage of intersexual fish is 5.26% for treatment with juvenile fish, while 38% was obtained in this study. From this, it is concluded that the administration of TBA in older fish is determinant for increasing survival and size of fish, with the inconvenience to increase the intersex fish proportion.

In relation to age, the guppy has a short biological cycle that is characterized by beginning its sexual activity between the fourth and fifth week of age²⁶ and it is related with growth,²⁵ which takes place in three stages: the first one is mainly manifested in the body; in the second, growth is seen in the caudal fin; in the third one, development is present in the dorsal fin. Even though longevity of the guppy is between 2.5 and three years, the body only grows until the ninth month of age, with a major rate during the first four; in that period of time the fish will have 70% of its maximum size. While the caudal fin in males, at four months will have reached a third part of its total length and at nine months will reach 90%, although it frequently reaches the same length as the body.²⁷

This last shows that when the experiment was initi-

tuvieron 65.3%. El resto de las variables muestran que los machos del grupo testigo fueron los que tuvieron mayor crecimiento, con excepción de la LAC de los machos masculinizados. Incluso, en este último tratamiento se registraron decrementos en la PACLC y en la TEC, al igual que las hembras en esta última variable.

El análisis de varianza, para los incrementos del crecimiento, determinó diferencias ($P < 0.03$) en todas las variables, indicando la prueba de Tukey que los machos del grupo testigo y los masculinizados diferían ($P < 0.01$) en todas las variables, a excepción de la LAC ($P > 0.05$). El contraste entre los machos y las hembras del grupo testigo muestra un patrón similar, al diferir ($P < 0.01$) en todas las variables, a excepción de la PACLC ($P > 0.05$). Mientras que los machos masculinizados y las hembras del grupo testigo difieren ($P < 0.01$) en LAC, PACLC y TEC.

Discusión

De acuerdo con Reznick,²⁵ la manifestación de los atributos de *P. reticulata* son una relación de causalidad o un trueque energético, así el aumento de uno de los componentes del ciclo de vida está en proporción inversa al decremento de otro, tal es el caso del balance crecimiento y reproducción y este último en relación con la sobrevivencia. Desde esta perspectiva, para establecer la mejor estrategia de aplicación del ATB en el guppy se tendría que conocer su ciclo biológico, sobre todo la edad en que inicia su actividad sexual, para asociarla con el patrón de crecimiento e impacto ocasionado por el tratamiento con el esteroide. El resultado debe garantizar el éxito de la masculinización, la forma y el tamaño deseado.

Lo anterior tiene sentido al considerar que la información disponible es escasa, por lo que es difícil comparar los resultados aquí descritos con los obtenidos por otros autores. Por tal razón, fue necesario considerar experiencias previamente obtenidas*, que indican que cuando el guppy de 2 ± 1 días de edad es tratado con ATB a la misma concentración y

ated, 30 ± 1 day old fish were sexually differentiated and were in sexual maturation process when they were treated with TBA during 60 days. At the end of the period, fish were 90 ± 1 day old, which corresponds to a commercial production cycle.

Results of the first period showed that masculinized fish with TBA grew more than control group males, while recording superior values in all growth variables, most of all the specific growth rate which registered a difference of 84.6%. It is probable that muscular mass increment caused failure in gonad development, provoking sterilization of treated fish. In this manner, organisms spent energy in growing at the expense of gonads maturation.

In summary, fish treated with TBA had a masculinization effectiveness of 100%, while not being administered, 68% would have been females; they were not harmed while recording 100% survival; they reached a superior size earlier than the control group males and their morphometric registries are comparable to the ones of males cultivated in commercial ponds, with the difference that the steroid highlighted the color of masculinized males and modified the shape while making them fusiform; inclusive more aesthetic, presenting a small body with a large caudal fin, in relation to the proportion recorded by control group males.

It is doubtless that TBA had androgenic and anabolic activity in the guppy. It is convenient to notice that this combination of effects has not been reported, even though TBA constitutes an androgenic steroid the same as testosterone, but with a superior anabolic capacity.^{19,20}

At the end of the second period, fish were 130 ± 1 days old and control group females were sexually mature, it is probable that this stimulus had an effect on males, which were sharing the same aquariums, presenting greater growth than masculinized fish, but with morphometric parameters similar to the ones of females.

The analysis of growth increment in percentage, unquestionably showed how masculinized fish and control group females kept growing, but not at the same rate that in the first period; on the contrary, the control group males showed greater growth, specially in weight. Analyzing only the information of masculinized males, the length of the caudal fin was the only variable that kept growing, but not in proportion, in relation to the body length and much less, the specific growth rate, which presented a drop.

Other relevant aspect at the end of the evaluation is the presence of 32% of intersexual fish, which shows that the residual effect of TBA was reflected in the secondary sexual traits, since the obtained masculinization at 60 days was not permanent, and indicates that

periodo que se utilizó en este trabajo, se obtiene 100% de masculinización y supervivencia de 84.4%, pero el tamaño del cuerpo y de la aleta caudal es mucho menor ($P < 0.001$) que cuando los peces son tratados a los 30 ± 1 días. Sin embargo, después de 100 días el porcentaje de peces intersexuales es de 5.26% para el tratamiento con peces juveniles, mientras que en esta investigación se obtuvo 38%. De lo anterior se deduce que una mayor edad del pez para administrarle el ATB es determinante para aumentar la sobrevivencia y el tamaño de los peces, con el inconveniente de aumentar la proporción de peces intersexuales.

Con respecto a la edad, el guppy tiene un ciclo biológico corto que se caracteriza por el inicio de la actividad sexual entre la cuarta o quinta semanas de edad²⁶ y se encuentra ligado con el crecimiento,²⁵ que se realiza en tres etapas: la primera se manifiesta en el cuerpo principalmente; en la segunda, el crecimiento se presenta en la aleta caudal; en la tercera, se centra en el desarrollo de la aleta dorsal. A pesar de que la longevidad del guppy es entre 2.5 y tres años, el cuerpo crece solamente hasta los nueve meses de edad, con mayor ritmo durante los cuatro primeros; en ese lapso el pez habrá adquirido 70% de su talla máxima; mientras que la aleta caudal a los cuatro meses, en los machos, habrá alcanzado una tercera parte de su longitud total y a los nueve meses llegará a 90%, aunque es frecuente que alcance una longitud igual a la del cuerpo.²⁷

Lo anterior, indica que cuando se inició el experimento los peces de 30 ± 1 días estaban diferenciados sexualmente y se encontraban en proceso de maduración sexual cuando fueron tratados con el ATB durante 60 días. Al finalizar el primer periodo, los peces tenían 90 ± 1 día, que corresponde a un ciclo de producción comercial.

Los resultados del primer periodo indicaron que los peces masculinizados con el ATB crecieron más que los machos del grupo testigo, al registrar valores superiores en todas las variables del crecimiento, sobretodo la tasa de crecimiento específico que registró una diferencia de 84.6%. Es probable que el incremento de la masa muscular fuera en detrimento del desarrollo de las gónadas y la consecuente esterilización de los peces tratados. De esta manera, los organismos invirtieron energía en el crecimiento y no en la maduración de las gónadas.

En síntesis, los peces tratados con ATB tuvieron una eficacia masculinizante de 100%, que de no haberse aplicado, 68% hubiera sido hembras; no les causó daño al registrar 100% de sobrevivencia; alcanzaron un tamaño superior al de los machos del grupo testigo en menor tiempo y sus registros morfométricos

*Comunicación personal, Samuel Marañón Herrera *et al.*, 2007

the action range of these steroids is short, which is why at the moment the administration was stopped, part of the masculinized organisms manifested female traits, which indicates that these fish continued to produce estrogens. From the aforementioned it is deduced that TBA is a chemical compound which its molecular structure gives a less virile androgenic function than testosterone, but with greater anabolic capacity.

From a commercial point of view, results show that based on trenbolone acetate, a strategy may be suggested to instrument monosexual populations of male guppies, which could have economical impact in the orientation of its culture, if it is considered that in wild poeciliid populations it is common that females predominate,²⁸ these show a more robust and opaque body, while the males have a more slender and elongated body, more intense color and caudal and dorsal fins are larger.²⁶ These differences determine the male to be more appreciated; therefore, more valued in the market.⁴

In the present document it was demonstrated that the biological process can be directed by the use of TBA to induce the sex of the fish and improve the morphometric parameters of the guppy, besides its use is not restricted because this type of organism is not destined for human consumption.

A determinant aspect for practical use is how to consider intersexual fish in an economical projection, since the male and female have a differential cost. Nevertheless, it is possible to consider intersexual fish as a factor which adds value to commercial production, since desirable scenario would be the obtainment of a fish with flashy morphological traits of the males, but with the corpulence of the females, in a maximum time of 90 days.

In conclusion, trenbolone acetate steroid is a good alternative for use in the guppy, with a masculinizing effectiveness of 100%, and its anabolic effect is reflected in the increment of the growth rate and the size of the caudal fin of the fish.

Referencias

1. Maya E, Marañón S. Efecto del pH sobre la proporción de sexos, el crecimiento y la sobrevivencia del guppy *Poecilia reticulata* Peters (1859). *Hidrobiológica* 1998; 8: 125-132.
2. Bassleer G. The international trade in aquarium/ornamental fish. *Infish Int* 1994; 5:15-17.
3. Chapman F, Fitz-Coy S, Thunberg EM, Adams C. United States of America trade in ornamental fish. *J World Aquacult Soc* 1997; 1 (28): 1-10.
4. Fernando AA, Phang PE. Culture of the guppy, *Poecilia reticulata*, in Singapore. *Aquaculture* 1985; 51: 49-63.
5. Yamamoto T. Sex differentiation. In: Hoar WS, Randall DJ, editors. *Fish Physiology*, New York, USA: Academic Press 1969; 3: 117-135.

son comparables con los de los machos cultivados en estanques comerciales, con la diferencia de que el esteroide acentuó la coloración de los machos masculinizados y modificó la forma al hacerlos más fusiformes; incluso más estéticos, al presentar cuerpo pequeño con aleta caudal grande, con respecto a la proporción que registraron los machos del grupo testigo.

Es indudable que el ATB tuvo actividad androgénica y anabólica en el guppy. Es conveniente aclarar que esta combinación de efectos no se ha notificado, a pesar de que el ATB constituye un esteroide androgénico al igual que la testosterona, pero con capacidad anabólica superior.^{19,20}

Al finalizar el segundo periodo, los peces tenían 130 ± 1 días de edad y las hembras del grupo testigo estaban maduras sexualmente, es probable que este estímulo repercutiera sobre los machos, que se encontraban compartiendo los mismos acuarios, al presentar mayor crecimiento que los peces masculinizados, pero con parámetros morfométricos similares al de las hembras.

El análisis del incremento del crecimiento en porcentaje, mostró en forma inobjetable cómo los peces masculinizados y las hembras del grupo testigo continuaron creciendo, pero no al mismo ritmo que en el primer periodo; por el contrario, los machos del grupo testigo presentaron mayor crecimiento, sobre todo en peso. Analizando únicamente la información de los machos masculinizados, la longitud de la aleta caudal fue la única variable que continuó creciendo, no así la proporción de ésta, en relación con la longitud del cuerpo, y, mucho menos, la tasa de crecimiento específico, que presentaron un decremento.

Otro aspecto relevante al finalizar la evaluación es la presencia de 32% de peces intersexuales, lo cual demostró que el efecto residual del ATB se reflejó en las características sexuales secundarias, ya que la masculinización obtenida a los 60 días no fue permanente, e indica que el rango de acción de estos esteroides es corto, por lo que en el momento en que se dejó de administrar, parte de los organismos masculinizados manifestaron características femeninas, lo cual indica que estos peces siguieron produciendo estrógenos. De lo anterior se deduce que el ATB es un compuesto químico cuya estructura molecular le confiere una función androgénica menos virilizante que la testosterona, pero con mayor capacidad anabólica.

Desde una perspectiva comercial, los resultados indican que con base en el acetato de trembolona se puede proponer una estrategia para instrumentar poblaciones monosexuales de machos en el guppy, que podría tener impacto económico en la orientación de su cultivo, si se considera que en las poblaciones

6. Takahashi H. Modification of the development of female reproductive organs in the guppy, *Poecilia reticulata*, following an androgen treatment in their juvenile period. Bull Fac Fish Hokkaido Univ 1974; 25: 174-199.
 7. Pandian J, Sheela G. Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture 1995; 138: 1-22.
 8. Green B, Veverica K, Fitzpatrick M. Fry and fingerling production. In: Egna HS, Boyd CE, editors. Dynamics of pond aquaculture. New York: CRC Press, Boca Raton 1997: 215-243.
 9. Dzwillo M. Über künstliche Erzeugung funktioneller Männchen weiblichen genotyps bei *Lebistes reticulatus*. [Artificial production of functional males of female genotype of *Lebistes reticulatus*]. Biol Zentralbl 1962; 81: 575-584.
 10. Dzwilo M. Über den Einfluss von Methyltestosteron auf primäre und sekundäre Geschlechtsmerkmale während verschiedener Phasen der Embryonal-entwicklung von *Lebistes reticulatus*. [Influence of Methyltestosteron on primary and secondary sex characteristics during different phases of the embryonic development of *Lebistes reticulatus*] Zool Anz 1966; 29: 471-476.
 11. Clemens HP, McDermitt C, Inslee T. The effects of feeding methyl testosterone to guppies for sixty days after birth. Copeia 1966; 2: 280-284.
 12. Pandian J. Endocrine and chromosome manipulation techniques for the production of all-male and all-female population in food and ornamental fishes. Proc Indian Natl Sci Acad 1993; 59(b): 549-566.
 13. Takahashi H. Masculinization of the gonad of juvenile guppy, *Poecilia reticulata*, induced by 11-ketotestosterone. Bull Fac Fish Hokkaido Univ 1975; 26: 11-22.
 14. Kavumpurath S, Pandian J. Masculinization of *Poecilia reticulata* by dietary administration of synthetic or natural androgen to gravid females. Aquaculture 1993; 116: 83-89.
 15. Galvez J, Mazik M, Phelps P, Mulvaney R. Masculinization of channel catfish *Ictalurus punctatus* by oral administration of trenbolone acetate. J World Aquacult Soc 1995; 4: 378-383.
 16. Davies K, Morrison R, Galvez J. Reproductive characteristics of adult channel catfish treated with trenbolone acetate during the phenocritical period of sex differentiation. Aquaculture 2000; 189: 351-360.
 17. Galvez J, Morrison R. Efficacy of trenbolone acetate in sex inversion of the blue tilapia *Oreochromis aureus*. J World Aquacult Soc 1996; 4 (27): 483-486.
 18. Contreras-Sanchez W, Fitzpatrick MS, Milston RH, Schreck CB. Masculinization of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by single immersion in 17 α -Methildihydrotestosterone and Trenbolone Acetate. Fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture; 1997 Nov 9-12; Orlando (Florida) USA. Orlando (Florida) USA: Department of Soil, Water and Environmental Science, University of Arizona 1997: 783-790.
 19. Rico A, Burgat V. Nueva información sobre el metabolismo de anabólicos. En: Scientifique Meissonnier, editor. Anabólicos en producción pecuaria. Aspectos de salud pública, métodos de análisis y reglamentación. silvestres de poecílicos es común que predominen las hembras;²⁸ éstas presentan un cuerpo más robusto y opaco, mientras que los machos tienen cuerpo esbelto y alargado, coloración más intensa y las aletas caudal y dorsal son de mayor tamaño.²⁶ Estas diferencias determinan que el macho sea más apreciado y, por consiguiente, mejor cotizado en el mercado.⁴
- En el presente documento se demostró que el proceso biológico puede ser orientado por el uso del ATB para inducir el sexo del pez y mejorar los parámetros morfométricos del guppy, además de que su empleo no es tan restringido porque este tipo de organismo no está destinado al consumo humano.
- Un aspecto que es determinante para fines prácticos es cómo considerar a los peces intersexuales en una proyección económica, ya que el macho y la hembra tienen un precio diferencial. Sin embargo, es posible considerar a los peces intersexuales como factor que agrega valor a la producción comercial, pues un escenario deseable sería la obtención de un pez que tenga las características morfológicas vistosas de los machos, pero con la corpulencia de las hembras, en un tiempo máximo de 90 días.
- En conclusión, el esteroide acetato de trembolona es buena alternativa para usarse en el guppy, con eficacia masculinizante de 100%, y su efecto anabólico se refleja en el incremento de la tasa de crecimiento y en el tamaño de la aleta caudal de los peces.
-
- París, Francia: Organización Mundial de Sanidad Animal, 1983:112-121.
20. Hoffman B, Evers P. Anabolic agents with sex hormone-like activities: Problems of residues. In: Rico E, editor. Drug Residues in Animals. Veterinary Science and Comparative medicine: A Series. London, UK: Academic Press Inc., 1986: 111-146.
 21. Guerrero R. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). Trans Am Fish Soc 1975; 2: 342-348.
 22. Meffe G, Snelson F. An ecological overview of Poeciliid fishes. In: Meffe G, Snelson F; Parenti L, Rauchenberger M, Constantz D, Angus R, *et al.*, editors. Ecology and evolution of livebearing fishes. New Jersey, EUA: Simon & Schuster 1989: 13-31.
 23. Zar J. Biostatistical analysis. 4^a ed. New Jersey, EUA: Simon & Schuster, 1999: 122-129.
 24. Montgomery D. Design and analysis of experimental. 2nd ed. New York: William and Sons. Inc., 1984.
 25. Reznick D. The structure of guppy life histories: The tradeoff between growth and reproduction. Ecology 1983; 64: 862-873.
 26. Dawes J. Livebearing fishes. London England: Blandford 1991.
 27. Sorin S. Peces tropicales vivíparos. Littec, Buenos Aires, Argentina: Acuarama 1972:1-70.
 28. Endler J. Multiple traits coevolution and environmental gradients in guppies. Trends Ecol Evol 1995; 10: 22-29.