

UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
Campus Loma Bonita

LICENCIATURA EN ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN DE LA HORMONA DIETILESTILBESTROL EN LA
DIFERENCIACIÓN SEXUAL, ÍNDICE GONADOSOMÁTICO Y
TASA DE CRECIMIENTO DE LA TILAPIA DEL NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN ZOOTECNIA**

PRESENTA:

JOSÉ ANTONIO MARÍN RAMÍREZ

ASESOR DE TESIS

DR. JUAN PABLO ALCÁNTAR VÁZQUEZ

LOMA BONITA, OAXACA, MÉXICO. DICIEMBRE 2014.

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada con todo amor y cariño:

A mis padres

Amparo y Antonino, por la confianza que depositaron en mi y por el apoyo que siempre obtuve de ustedes. Gracias ya que he logrado una de mis metas de tener una formación profesional y espero sigan siendo parte de esto por mucho tiempo.

A mi mamá y mis tíos

Por sus consejos y apoyo para seguir adelante y ser un buen ejemplo para mí.

A mis amigos

Verónica, José, Efraín, Oscar y Varinia, por los buenos momentos que compartimos, por el apoyo y cariño, pero sobre todo por su valiosa amistad.

A mi nueva familia

Xochitl y Nemesio, por los momentos llenos de felicidad que pasamos y por los que a veces no tanto, sobre todo por sus consejos tan buenos que me dieron y por su apoyo incondicional en cada momento.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Papaloapan,

Por la preparación y educación integral, por todo su apoyo durante mi estancia, y por permitirme ser parte de esta gran institución.

A mi director de tesis,

Dr. Juan Pablo Alcántar Vázquez, por la paciencia, dedicación y comprensión brindadas durante el desarrollo de este proyecto, aportando sus conocimientos y sabios consejos.

A mis revisores,

Dr. Bertín Maurilio Joaquín Torres, M.C. Raúl Moreno de la Torre y M.C. Carolina Antonio Estrada, por su apoyo y orientación en la revisión de este proyecto.

Gracias a todos los que colaboraron conmigo en el laboratorio y en el trabajo de campo para llevar a cabo este proyecto.

Gracias a cada uno de mis profesores por brindarme sus conocimientos y ser parte fundamental de mi formación profesional. Agradezco a todos mis compañeros, a quienes se quedaron a mitad del camino y a quienes estuvieron conmigo hasta el final, por permitirme convivir con cada uno de ellos y brindarme su apoyo en cada una de las diferentes etapas de la carrera.

ÍNDICE	Página
ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
ÍNDICE DEL APÉNDICE	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos particulares	3
3. HIPÓTESIS	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1. Producción mundial, nacional y regional de la tilapia del Nilo	5
4.2. Tilapia del Nilo	6
4.3. Técnicas para la obtención de cultivos monosexo	7
4.4. Determinación del sexo	9
4.5. Proceso de reversión sexual	9
4.6. Peces supermachos o machos YY	10
4.7. Estrategias de feminización	11
4.8. Variables en el proceso de feminización	12
4.9. Dietilestilbestrol	15
5. METODOLOGÍA	16
5.1. Localización del experimento	16
5.2. Clima	16
5.3. Tratamientos y diseño experimental	16

5.4. Variables evaluadas	16
5.5. Desarrollo del experimento	17
5.5.1. Reproductores	17
5.5.2. Preparación del alimento hormonado	17
5.5.3. Producción de alevines en condiciones experimentales	19
5.5.4. Crecimiento de juveniles en estanques de ferrocemento con recirculación	20
5.5.5. Análisis de la proporción de sexos	20
5.5.6. Análisis estadístico	21
6. RESULTADOS	22
6.1. Crecimiento durante el periodo de alevín	22
6.2. Crecimiento durante el periodo juvenil y de engorda	24
6.3. Proporción de sexos e índice gonadosomático	26
7. DISCUSIÓN	27
7.1. Supervivencia	28
7.2. Crecimiento	30
7.3. Feminización	32
7.4. Índice gonadosomático	34
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
9. LITERATURA CITADA	38
10. APÉNDICE	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Principales estrógenos naturales y sintéticos usados en la feminización de peces	13
2	Porcentaje de supervivencia, proporción de sexos, peso, longitud e índice gonadosomático en adultos de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con dietilestilbestrol, a diferentes concentraciones, durante el periodo de alevín	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Peso en alevines de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con dietilestilbestrol (DES), a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático. ...	22
2	Longitud en alevines de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con dietilestilbestrol (DES), a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático	23
3	Peso durante el periodo juvenil y de engorda en individuos de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con dietilestilbestrol (DES), a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático	24
4	Longitud en el periodo juvenil y engorda en individuos de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con dietilestilbestrol (DES), a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático.	25

ÍNDICE DEL APÉNDICE

Figura		Página
1	Diagrama de generación para la producción de peces supermacho YY	45
2	Hormona estrogénica sintética dietilestilbestrol	46
3	Alimento comercial al 53 % de proteína	46
4	Disposición que presentó el alimento para la aplicación de las diferentes concentraciones de la hormona dietilestilbestrol	47
5	Aplicación de la hormona dietilestilbestrol al alimento de afuera hacia adentro	47
6	Homogeneización del alimento con la ayuda de una espátula	48
7	Envasado, etiquetado y conservación de alimento en refrigeración a 4 °C	48
8	Sistema de recirculación cerrada compuesto por 15 acuarios con capacidad de 85 l de agua cada uno	49
9	Estanques de ferrocemento en la Unidad Acuícola Experimental de la Universidad del Papaloapan	49

RESUMEN

La reversión sexual por hormonas exógenas es la técnica más usada para obtener poblaciones monosexuales en la producción comercial de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Sin embargo, esta técnica ocasiona una percepción negativa por parte de los consumidores debido a potenciales peligros al ambiente y a la salud. Debido a lo anterior, se han desarrollado técnicas alternativas como la producción de machos YY. Estos machos al cruzarse con hembras normales producen poblaciones compuestas por un 100% de machos genéticos libres de hormonas. No obstante, la primera parte de la técnica requiere de feminización de alevines con genotipo XY a través de hormonas estrógenas. La aplicación del estrógeno sintético dietilestilbestrol ha sido relacionada con una mejoría en el crecimiento, especialmente a altas concentraciones en especies relacionadas con la tilapia del Nilo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de concentraciones crecientes de DES (100, 200, 300, 400 y 0 mg/kg) durante el periodo de alevín en la proporción de sexos, tasa de crecimiento, supervivencia e índice gonadosomático (IGS) de la tilapia del Nilo. Los alevines fueron obtenidos a partir de reproductores mantenidos en la Universidad del Papaloapan y fueron sembrados en un sistema de recirculación cerrada compuesto por 15 acuarios de 85 L de capacidad. La hormona fue proporcionada por 20 días a saciedad aparente (11 veces al día) desde el momento de la siembra de los alevines. Una vez terminado el experimento los pre-juveniles se trasladaron a estanques de ferrocemento de 3 m de diámetro y se alimentaron de acuerdo al plan de alimentación establecido comercialmente para la tilapia del Nilo. La

supervivencia registro diferencias significativas ($P<0.05$) entre los grupos alimentados con DES y el grupo control. Dicha reducción fue drástica a partir de la concentración mas baja de DES. La concentración de 400 mg/kg de DES fue la que produjo la mayor proporción de hembras (91 %) en comparación con el resto de las concentraciones. El examen gonadal de los peces registro una reducción significativa ($P<0.05$) del IGS en los grupos alimentados con dietilestilbestrol, así como una reducción general del crecimiento, resultando en un peso corporal y una longitud del cuerpo mas pequeños en comparación con el grupo control. En base a los resultados obtenidos es posible concluir que incrementando la concentración de DES proporcionada a través de la dieta es posible incrementar la proporción de hembras. Sin embargo, altas concentraciones de dietilestilbestrol no garantizan una feminización del 100 % en la tilapia del Nilo. De igual forma, la reducción del crecimiento y el IGS es un efecto negativo resultado de la aplicación de hormonas estrógenas a concentraciones elevadas.

Palabras clave: Macho YY, Feminización, *Oreochromis niloticus*, Dietilestilbestrol, Crecimiento, Índice gonadosomático.

ABSTRACT

Sex reversal by exogenous hormones is the most common method used to generate monosex populations in commercial production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). However, this technique has generated a negative perception by consumers because of the potential risks to the environment and human health. Because of this, there have been a number of alternative production techniques, among which is the production of YY-males. YY-males when crossed with normal females produce populations of 100% hormone-free genetic males. However, the first part of the technique requires the feminization of XY fry genotype by estrogen hormones. The application of the synthetic estrogen diethylstilbestrol has been associated with improved growth, especially at high concentrations in species related to Nile tilapia. The aim of this study was to evaluate the effect of increasing concentrations of diethylstilbestrol (100, 200 300, 400 and 0 mg/kg) applied during the fry stage, in the sex ratio, growth rate, survival and gonadosomatic index (GSI) of Nile tilapia. The fry were obtained from the broodstock maintained at the University Papaloapan and they were reared in a closed recirculating system consisting of 15 85 L-acrylic aquaria. The hormone was provided for 20 days *ad libitum* (11 times a day) from the time of fry stocking. Once the experiment was completed the pre-juvenile fish were transferred to 3-m in diameter concrete tanks and fed according to the meal plan established commercially for Nile tilapia. The proportion of survival showed significant differences ($P<0.05$) between the groups treated with diethylstilbestrol and the control group. This drastic reduction in survival was observed from the lowest concentration of diethylstilbestrol. The highest

proportion of females (91%) was observed in the concentration of 400 mg/kg of DES compared to the rest of the concentrations. Examination of the gonads showed a significant ($P<0.05$) decrement in the GSI of the diethylstilbestrol-fed groups compared with the control group. Additionally, a general reduction of growth, resulting from a reduction of body weight and length was observed. Based on the results obtained it can be concluded that by increasing the concentration of diethylstilbestrol provided through the diet is possible to increase the proportion of females. However, high concentrations of diethylstilbestrol does not guarantee a 100% feminization in Nile tilapia. In the same way, the reduction in growth and GSI observed is a negative effect resulting from the application of high concentrations of estrogen hormones.

Keywords: YY-male, Feminization, *Oreochromis niloticus*, Diethylstilbestrol, Growth, Gonadosomatic index.

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día en la producción comercial de tilapia, la reversión sexual por hormonas exógenas, es la técnica más usada para obtener poblaciones monosexuales, ya que sin importar el sistema de determinación sexual, la aplicación de hormonas altera el fenotipo de los peces y, con ello, sus características sexuales, dentro de las cuales se incluyen la diferenciación gonadal. Adicionalmente, las hormonas tienen una serie de efectos sobre el crecimiento, la síntesis de proteínas y de las grasas. En general, esta técnica puede producir poblaciones de monosexo en un porcentaje superior al 99.8 % (Daza *et al.*, 2005); esto conlleva a un control del sexo en peces y representa un fuerte incentivo comercial para cultivar poblaciones de sexo únicos, generalmente poblaciones de machos en el caso de la tilapia, aumentando la rentabilidad de las granjas acuícolas, ya que los machos revertidos crecen más rápido, lo cual genera una mayor tasa de crecimiento que las hembras y sobre todo porque se elimina el comportamiento sexual y territorial, así como su reproducción dentro de estanques (Desprez *et al.*, 2003; Ponzoni *et al.*, 2005).

Lo antes mencionado permite una comercialización de peces de talla grande y homogénea, además de la disponibilidad de pescado durante todo el año (Wessels y Horstgen-Schwark, 2007). Sin embargo, la inducción directa del cambio de sexo, a través del uso de hormonas, ocasiona una percepción negativa por parte de los consumidores potenciales (Mair *et al.*, 2007), debido a los peligros reales que puede ocasionar el uso de hormonas en grandes volúmenes al ambiente (Nguyen *et al.*, 2007). Por tanto, se han desarrollado

técnicas alternativas como la producción de machos YY, también llamados supermachos (Mair *et al.*, 2007).

La técnica de producción de machos YY consiste en producir reproductores con un genotipo YY, llamados frecuentemente supermachos. La idea detrás de esta técnica es que estos machos YY al cruzarse con hembras normales arrojen poblaciones compuestas por un 100 % de machos genéticos. Sin embargo, aunque la técnica no requiere el uso de hormonas para producir poblaciones monosexuales en los especímenes que son comercializados, la primera parte de la técnica requiere la feminización de lotes de alevines con genotipo XY a través de hormonas estrógenas, ya sean naturales o sintéticas.

La feminización es una etapa crítica durante la producción de machos YY, ya que permite obtener machos feminizados (hembras XY) a partir de los cuales se obtienen los supermachos. A diferencia de la masculinización que se encuentra bien controlada y con frecuencia resulta en porcentajes de machos del 100 %, la feminización es más complicada, por lo que actualmente todavía se está evaluando para poder optimizar la obtención de altos porcentajes de hembras. Al respecto, una de las hormonas sintéticas más utilizadas actualmente es el dietilestilbestrol (DES), donde su aplicación, en altas concentraciones, ha sido relacionada con una mejoría en el crecimiento (Varadaraj, 1989) y una feminización del 100 %. Como parte de la optimización de la técnica de producción de machos YY desarrollada en la UNPA, se pretende evaluar el efecto de concentraciones crecientes de DES en el crecimiento y porcentaje de feminización de la tilapia del Nilo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de concentraciones crecientes de dietilestilbestrol (100, 200, 300, 400 mg/kg) durante el periodo de alevín en la proporción de sexos, tasa de crecimiento e índice gonadosomático de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.2. Objetivos particulares

2.2.1. Determinar el efecto de concentraciones crecientes de dietilestilbestrol (100, 200, 300, 400 mg/kg) administrado oralmente, durante el periodo de alevín en la proporción de sexos en tilapia del Nilo.

2.2.2. Determinar el efecto de concentraciones crecientes de dietilestilbestrol (100, 200, 300, 400 mg/kg) administrado oralmente, durante el periodo de alevín en la tasa de crecimiento en tilapia del Nilo.

2.2.3. Determinar el efecto de concentraciones crecientes de dietilestilbestrol (100, 200, 300, 400 mg/kg) administrado oralmente durante el periodo de alevín en el índice gonadosomático en tilapia del Nilo.

2.2.4. Determinar el efecto de concentraciones crecientes de dietilestilbestrol (100, 200, 300, 400 mg/kg) administrado oralmente durante el periodo de alevín en la supervivencia en tilapia del Nilo.

3. HIPÓTESIS

La hormona dietilestilbestrol administrada en la etapa de alevín tiene un efecto significativo sobre la proporción de sexos, tasa de crecimiento e índice gonadosomático en la tilapia del Nilo.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Producción mundial, nacional y regional de la tilapia del Nilo

La organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación (FAO) reporta que la acuicultura es un rubro de alto impacto económico y social, el cual genera ingresos y ofrece alimento de alto valor nutricional, representando una fuente importante de proteínas y nutrientes esenciales. La tilapia es el segundo grupo de peces con mayor producción en la acuicultura, del cual la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) representa más del 85 % de la producción a nivel mundial, mientras que las otras especies ocupan el 15 % restante (FAO, 2012).

En 2011 la producción mundial del grupo conocido como tilapia alcanzó 3,957,949 ton, lo cual representó un crecimiento anual de 10.7 % en los últimos 10 años. Los países con mayor producción son China, India e Indonesia, los cuales aportan más del 50 % de la producción en acuicultura, seguidos por Egipto (FAO, 2012).

En México, la tilapia ocupa el quinto lugar en volumen en producción dentro de las especies acuáticas, con un total para el 2011 de 75,927 ton de peso vivo. Del total del volumen producido, la tilapia cultivada por la acuicultura aporta más del 90 % de la producción nacional, la cual es producida principalmente en los estados de Veracruz (15.23 %), Chiapas (12.16 %), Jalisco (10.11 %) y Tamaulipas (8.79 %). Lo anterior, coloca a esta especie como el tercer grupo de peces en cuanto a valor económico, ya que genera más de 84 millones de dólares y presenta un crecimiento anual de 1.44 % en los últimos 10 años (CONAPESCA, 2011).

La región del Papaloapan produce 12,186 ton de tilapia, de las cuales 11,563 ton corresponden al estado de Veracruz y 623 ton a Oaxaca. Así, la producción en dicha región representa el 16 % del total en el país. Lo anterior, hace evidente la importancia de esta región en la producción de tilapia. Por tanto, es necesario impulsar el consumo de dicha especie en el mercado local, y principalmente, en lugares donde no se puede producir, con la finalidad de aprovechar los beneficios nutritivos que este pez aporta (CONAPESCA, 2011).

4.2. Tilapia del Nilo

El grupo de peces conocido como tilapias y en particular la tilapia del Nilo presenta una serie de características que la convierten en una de las especies con mayor potencial de cultivo. Estas características incluyen el rápido crecimiento, aceptación de una gran variedad de dietas, alta resistencia de enfermedades y altos rendimientos en producción, además que puede desarrollarse a altas densidades tolerando bajas concentraciones de oxígeno y amplios intervalos de salinidad. Sin embargo, uno de los principales problemas que presenta, está relacionado con la maduración precoz que exhibe al desarrollarse en cultivos mixtos (Jiménez y Arredondo, 2000).

Al igual que en todas las especies cultivadas de peces, la maduración gonadal representa un gasto energético, el cual se ve reflejado en la disminución de la tasa de crecimiento, produciendo peces con capacidad reproductiva de tallas pequeñas y heterogéneas; además de ocasionar competencia por el alimento y reducir significativamente la calidad del agua

dentro del estanque de cultivo, principalmente la concentración de oxígeno (Jiménez y Arredondo, 2000).

4.3. Técnicas para la obtención de cultivos monosexo

En el género *Oreochromis*, la hembra es la que realiza la incubación y lo puede realizar a partir de los 3 meses de edad en condiciones favorables. La incubación de los huevos se lleva a cabo en la boca y una vez eclosionados los alevines, los cuida por un tiempo adicional en los incubadores bucales. Durante este tiempo la hembra no se alimenta, lo cual reduce aún más su tasa de crecimiento. Por tanto, la maduración precoz da como resultado que los peces tarden más tiempo en alcanzar la talla comercial, con lo cual se incrementan los costos de producción (Daza *et al.*, 2005). Debido a lo anterior, actualmente existen una serie de técnicas para controlar y de esta forma obtener poblaciones monosexuales para los cultivos comerciales de la tilapia. Una de las técnicas básicas consiste en el sexado manual, el cual consiste en separar machos y hembras con base en las características morfológicas de la papila genital. Sin embargo, requiere de una labor intensiva y no garantiza poblaciones exclusivamente de machos (tiene una efectividad promedio de 85 a 95 %) debido a las variaciones morfológicas de las características externas de la papila de cada individuo, apreciación visual y experiencia del personal que la realiza (Vidal *et al.*, 2010). Otra alternativa es la introducción de peces depredadores, tales como la perca (*Perca fluviatilis*), la lobina negra (*Micropterus salmoides*) o la tenhuayaca (*Petenia splendida*), las cuales son

especies carnívoras que se alimentan de los alevines, contribuyendo así a controlar la población en los estanques (Jiménez y Arredondo, 2000).

La producción de híbridos obtenida por el cruzamiento de especies distintas como el caso de hembras *O. niloticus* x *O. mossambicus* o viceversa, origina un mayor número de machos, o bien, reduce la fertilidad de dichos híbridos. Sin embargo, esto solo funciona exitosamente en combinaciones de líneas específicas para las diferentes especies. La utilización de técnicas quimioesterilizantes o el uso de radiaciones con rayos X, los cuales alteran la capacidad reproductiva de los individuos, así como la manipulación genética, que consiste en la producción de organismos haploides, triploides y poliploides que son funcionalmente estériles, requieren un mayor grado de tecnificación por parte de las granjas acuícolas (Jiménez y Arredondo, 2000; Daza *et al.*, 2005).

La reversión sexual por medio de la aplicación de hormonas naturales o sintéticas durante el periodo de alevín ha sido utilizada con gran éxito para inducir la producción de poblaciones monosexuales compuestas exclusivamente de machos. Esta técnica, ha sido la más utilizada en las últimas décadas en el cultivo de la tilapia del Nilo (Vidal *et al.*, 2010).

Estas técnicas tienen como objetivo obtener una buena rentabilidad económica y financiera en el cultivo, ocasionando que los organismos canalicen toda la energía obtenida del alimento hacia el crecimiento somático y no hacia el desarrollo de las gónadas y reproducción (Ponzoni *et al.*, 2005).

4.4. Determinación del sexo

La determinación del sexo en tilapia del Nilo está gobernado por las interacciones de tres componentes, un sistema complejo de determinación del sexo genético, con un locus principal determinante y algunos factores genéticos menores (factores parenterales), así como por la influencia de la temperatura, lo cual hace posible que la determinación del sexo en tilapia pueda ser alterado por factores ambientales, dando como resultado un fenotipo diferente al sexo genético. Esto da como resultado la existencia de los dos posibles fenotipos morfológicos, funcionales y de comportamiento hembra o macho (Baroiller *et al.*, 2009).

4.5. Proceso de reversión sexual

La exposición a esteroides durante el periodo de diferenciación sexual cambia el desarrollo de las gónadas en algunas especies de peces incluida la tilapia, donde el tratamiento con andrógenos induce masculinización, y los más utilizados son 17α -metilttestosterona y 17α -etinilttestosterona. En cambio, los estrógenos inducen la feminización, y los más utilizados son el estradiol- 17β y etinilestradiol (Devlin y Nagahama, 2002). De tal forma que se plantea que la diferenciación sexual se da a partir de la relación que existe entre los andrógenos y los estrógenos, lo que significa que si la concentración de estrógenos es mayor que la de andrógenos, se llevará a cabo la diferenciación sexual femenina (Bogart, 1987). En el caso de la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) las preferencias están a favor de la producción de poblaciones 100 % machos, ya que crecen más rápido que las hembras; sin embargo, también se requieren

estrógenos para el control del sexo en los casos en que el objetivo final es la producción de machos (Jiménez y Arredondo, 2000).

La reversión sexual, en este caso la feminización, consiste en transformar la progenie en hembras, empleando para ello estrógenos naturales o sintéticos, los cuales se aplican durante las primeras semanas del desarrollo, durante el periodo lábil, es decir, antes de que comience a diferenciarse el tejido gonadal (Yamamoto, 1969; Piferrer, 2001).

4.6. Peces supermachos o machos YY

La producción de poblaciones monosexuales de tilapia, a través de la aplicación de hormonas masculinas, ha generado preocupación por parte de los consumidores con respecto a la seguridad alimentaria. Una técnica que se puede aplicar para limitar el uso de hormonas en la masculinización, reduciendo el uso de hormonas directamente en la población, es la producción de tilapia genéticamente machos, a través de los machos YY (Figura 1 del Apéndice). Esta técnica involucra tres generaciones de cría (Ponzoni *et al.*, 2005). Donde el primer paso involucra la feminización hormonal con un estrógeno natural o sintético de la descendencia de un grupo de reproductores normales F0. Posteriormente, de la población F1 resultante ahora hembras XY (machos feminizados) y XX (normales), se seleccionan solo los machos feminizados (XY), los cuales se cruzan con un macho XY normal proveniente de otro lote. La descendencia de ésta cruce (F2) estará compuesta por 25 % de hembras (XX), 50 % de machos (XY) y 25 % de supermachos (YY). Estos últimos se pueden cruzar con hembras normales (XX) para dar como resultado aproximadamente

95 % de machos en la población F3, ya que el medio ambiente influye en la proporción de hembras de la progenie (Green *et al.*, 1997; Daza *et al.*, 2005; Mair *et al.*, 2007).

La producción de supermachos ha tenido éxito en varias especies, tales como peces de colores (*Carassius auratus* o *Betta splendens*), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), tilapia del Nilo (*O. niloticus*), salmón (*Salmo salar* ó *Oncorhynchus tshawytscha*) y bagre (*Clarias lazera*). Cabe señalar que a diferencia de la masculinización que se practica ampliamente, la feminización ha sido difícil tanto en la selección del esteroide, como en las dosis que se debe aplicar (Piferrer, 2001).

4.7. Estrategias de feminización

Existen dos métodos para la feminización de la tilapia, los cuales consisten en tratamiento hormonal y la inducción de la ginogénesis. El tratamiento hormonal consiste en la aplicación de esteroides sexuales a cualquier especie de pez, independientemente del sistema de determinación del sexo e independientemente de que el sexo sea heterogamético u homogamético e implica el uso de estrógenos durante las primeras etapas de desarrollo. En el método de feminización, se pueden usar estrógenos naturales, sintéticos e incluso compuestos con actividad estrogénica (Piferrer, 2001).

La feminización directa por medio de tratamiento hormonal es el proceso más utilizado para la obtención de progenies de monosexo en la producción comercial de tilapias. Una de sus ventajas, es que se puede aplicar de distintas maneras, ya sea mediante vía oral, a través de la inmersión de embriones en

soluciones con esteroides, o bien, por enriquecimiento bioencapsulado, el cual consiste en hacer llegar el esteroide al pez utilizando como vehículo una presa viva (Contreras-Sanchez *et al.*, 2003). Estas técnicas combinadas con incubación artificial producen progenies con una proporción de machos superior al 99.8 % (Daza *et al.*, 2005). Actualmente la técnica más utilizada para feminizar de manera directa es a través del alimento, ya que los resultados son más homogéneos e incluso efectivos hasta en un 100 %. Además, el alimento hormonado está comercialmente disponible, o bien, se puede preparar fácilmente (Daza *et al.*, 2005).

La inducción de la ginogénesis es un método que comprende una serie de pasos destinados a incrementar la proporción de hembras, el cual consiste en lograr la eliminación del material genético que aporta el macho a través de su esperma (determinante en el sexo del alevín), con lo que se consigue que la carga genética obtenida sea la misma de la reproductora. En esta técnica de mejoramiento genético, se aplica radiación ultravioleta al esperma, en una dosis alta para inactivarlo pero que a la vez no lo inutilice para realizar la fecundación y se inicie el proceso de desarrollo embrionario (Daza *et al.*, 2005).

4.8. Variables en el proceso de feminización

El tipo de esteroide corresponde a una variable cualitativa, el cual se utiliza como feminizante, pueden ser de distinta naturaleza como son los estrógenos naturales, particularmente el estradiol-17 β . Sin embargo, los estrógenos sintéticos como el 17 α -etinilestradiol han cobrado fuerza en los últimos años e incluso algunas sustancias no esteroideas se han utilizado

deliberadamente para alterar el sexo de los peces tal es el caso del N, N-Dimetilformamida que se usa durante el desarrollo de la trucha arcoíris, demostrando entonces que muchas sustancias, ya sea hormonas o neurotransmisores, se pueden aplicar en la reversión de sexos (Van den Hurk *et al.*, 1980; Piferrer, 2001).

Existen 12 diferentes compuestos estrogenicos feminizantes, los cuales han sido utilizados en el control del sexo de peces (Cuadro 1). Comúnmente los estrógenos sintéticos tienen un mayor efecto de reversión, en comparación con los estrógenos naturales debido a que están sujetos a una eliminación más lenta, aunque las diferencias en el receptor del esteroide sexual también puede ser relevante (Piferrer, 2001).

Cuadro 1. Principales estrógenos naturales y sintéticos usados en la feminización de peces.

Estrógenos naturales	Estrógenos sintéticos
Estrona (E ₁)	Dietilestilbestrol (DES)
Estradiol-17β (E ₂)	Dietilestilbestrol difosfato (DES-DF)
Estriol (E ₃)	Dietilestilbestrol dipropionato (euvestin)
	Dihidrodietilesbestrol (hexestrol)
	17α-etilnilestradiol (EE)
	14, 15-metil estradiol (ME ₂)
	Benzoato de estradiol (EB)
	Butiril acetato estradiol (EBA)
	Propionato de estradiol (EP)

(Adaptado de Piferrer, 2001).

El estrógeno sintético 17 α -etinilestradiol (EE) y dietilestilbestrol (DES) se han utilizado en varias especies de peces y están entre los agentes más potentes feminizantes probados hasta la fecha. Su potencia relativa observada puede variar entre especies y depende de las condiciones ambientales. Al respecto, Rosenstein y Hulata (1994) reportan que el dietilestilbestrol es más potente que el EE como feminizante para *O. aureus*. Asimismo, en la tilapia del Nilo los estrógenos como dietilestilbestrol en altas concentraciones (200 y 400 mg/kg o EE en dosis 20, 50 y 100 mg/kg), durante 28 días son aptos para producir hembras. Sin embargo, no se alcanza el 100 % de feminización, demostrando con esto que la intensidad del tratamiento hormonal y las condiciones ambientales o parentales afectan la reversión (Jiménez y Arredondo, 2000; Piferrer, 2001).

Las variables cuantitativas son la dosis y la duración de aplicación del tratamiento hormonal. La eficiencia (efectos propios del tratamiento, es decir, la inducción de la diferenciación sexual) de cada una de estas variables, en una determinada especie, dependerá del tipo de estrógeno y su origen. En la tilapia del Nilo existe un periodo durante el desarrollo conocido como periodo lábil, el cual se define como el tiempo en el cual, las gónadas todavía sexualmente indiferenciadas son más sensibles a la acción de los esteroides exógenos (Hackmann y Reinboth, 1974; Piferrer, 2001). Por tanto, los tratamientos hormonales realizados durante el periodo lábil requieren la combinación de duración del tratamiento y dosis adecuada de esteroide para alcanzar el sexo gonadal deseado (Piferrer y Donaldson, 1993; Piferrer, 2001).

4.9. Dietilestilbestrol

Varios países con sistemas intensivos de producción de carne utilizan anabólicos para mejorar su rendimiento, a través del incremento de la velocidad de crecimiento, conversión alimenticia y disminución del periodo de producción. En los anabólicos se incluye a los esteroides sintéticos, los cuales se agrupan en estilbénicos (dietilestilbestrol y dienestrol), no estilbénicos y betadrogénicos. Dentro de los estilbénicos el más difundido es el dietilestilbestrol, el cual está prohibido en casi todo el mundo. Esta prohibición radica en que este producto, a pesar de ser barato y eficaz como engordador, tiene un alta acción estrogénica, es decir, feminizante; además, presenta acción hepatotóxica, y probablemente cancerígena (Bavera *et al.*, 2002)

En peces se ha observado que el dietilestilbestrol es un disruptor endocrino muy potente. Sin embargo, su eficacia para revertir el sexo depende de la especie de tilapia, condiciones de manejo, momento de la aplicación, concentración y duración del mismo. Por tanto, una vez descubierta su utilidad para revertir el sexo, se ha venido utilizando como un estrógeno sintético mucho más potente que los estrógenos naturales tales como el estradiol-17 β y el 17 α -etinilestradiol (Phelps y Popma, 2000).

5. METODOLOGÍA

5.1. Localización del experimento

El trabajo se llevó a cabo en la Unidad Acuícola Experimental de la Universidad del Papaloapan, ubicada en Loma Bonita, Oaxaca, en las coordenadas 18° 06´ latitud Norte y 95° 53´ longitud Oeste, a una altura de 30 msnm (FAM, 2014).

5.2. Clima

El clima del lugar es cálido húmedo, con lluvias abundantes en verano. La temperatura y precipitación anual promedio es de 25 °C y 1845.2 mm, respectivamente (FAM, 2014).

5.3. Tratamientos y diseño experimental

Se evaluaron cuatro concentraciones de la hormona dietilestilbestrol: 100, 200, 300 y 400 mg/kg de alimento y un grupo control de 0 mg/kg de alimento a una temperatura de 25 °C. Los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar, con tres repeticiones. El tamaño de la unidad experimental estuvo compuesto de 15 acuarios de vidrio con capacidad de 85 l de agua y una densidad de 1 alevín por litro de agua bajo un sistema de circulación cerrada.

5.4. Variables evaluadas

Las variables evaluadas durante el desarrollo del presente experimento están relacionadas directamente con la aplicación de los estrógenos durante el

periodo de alevín. Estas fueron: crecimiento, peso húmedo, longitud total, supervivencia, índice gonadosomático y finalmente la proporción de sexos.

5.5. Desarrollo del experimento

5.5.1. Reproductores

El grupo de reproductores utilizado fue el formado en la Universidad del Papaloapan a partir de reproductores traídos del Sistema Cooperativo Integral (SISCOIN) y el Centro Acuícola de Temazcal. Se alimentaron con pellets flotantes comerciales al 25 % de proteína, durante dos veces al día.

Los reproductores de la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) fueron colocados en estanques de ferrocemento de 3 m de diámetro, conteniendo agua con microalgas a una proporción 3:1 de hembra:macho y a una temperatura de 28 a 30 °C.

5.5.2. Preparación del alimento hormonado

Preparación de la solución madre. Para ello se pesó 1 g de la hormona esteroide sintética dietilestilbestrol utilizando una balanza analítica (Figura 2 del Apéndice) y se diluyó en 1,000 ml de alcohol etílico al 95 %, utilizando un matraz aforado. Esta solución se almacenó en refrigeración a 4 °C en oscuridad hasta su utilización. De la solución madre se obtuvieron las concentraciones a utilizar, las cuales fueron de 100, 200, 300, y 400 mg/kg de alimento, respectivamente, siguiendo el método de evaporación de alcohol propuesto por Guerrero (1975). Dado que la solución madre tiene una concentración de 1,000 mg/l de la hormona y considerando que es una mezcla homogénea, se tomaron

100, 200, 300 y 400 ml de la solución, respectivamente. Para agregar dicha concentración de hormona a un kilogramo de alimento comercial al 53 % de proteína (harina, Purina Agribands) (Figura 3 del Apéndice), se le agregó suficiente alcohol etílico al 95 % para obtener un volumen final de 500 ml. Este volumen es el recomendado para hormonar un kilogramo de alimento. El alcohol funcionó como vehículo para adicionar la concentración deseada en un kilogramo de alimento.

La incorporación de las diferentes concentraciones de hormona al alimento comercial, se realizó utilizando un atomizador de plástico, con capacidad de 500 ml, el alimento se distribuyó en una capa fina sobre un plástico (Figura 4 del Anexo) y la solución se asperjó sobre el alimento de afuera hacia adentro, cuidando que la aspersion humedeciera uniformemente a todo el alimento y no se concentrara en una sola área (Figura 5 del Apéndice). Para asegurar un asperjado uniforme en el alimento, éste se recogió con una espátula de metal, se homogenizó y se volvió a formar una capa fina de alimento, repitiendo el proceso 4 o 5 veces hasta que la solución se terminó (Figura 6 del Apéndice). Posteriormente, se dejó secar el alimento a temperatura ambiente, por un periodo de cuatro horas. El alimento control de 0 mg/kg de DES tuvo el mismo proceso de elaboración. El alimento hormonado y el control, ya perfectamente seco, se colocaron en recipientes de plástico y se almacenaron en un ambiente fresco a 4 °C (Figura 7 del Apéndice).

5.5.3. Producción de alevines en condiciones experimentales

Los alevines recién eclosionados y sexualmente indiferenciados se colectaron aproximadamente 14 días después de formados los grupos de reproducción. Para colectarlos se bajó el nivel de agua de los estanques por medio de sifón sacando más del 90 % del volumen.

Los alevines colectados del estanque se mezclaron y transportaron a un conjunto de 15 acuarios de vidrio con capacidad de 85 l de agua y una densidad de 1 alevín por litro de agua, bajo un sistema de circulación cerrada (Figura 8 del Apéndice). No se aplicó ningún tratamiento profiláctico a los alevines durante su paso del estanque al acuario. Se manejó un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

Durante los primeros 20 días, los alevines fueron alimentados con el tratamiento hormonal correspondiente, aproximadamente al 20 % de su peso corporal. Durante ésta etapa los alevines se alimentaron cada hora durante 12 horas. El flujo de aire dentro de los acuarios se cerró 5 minutos antes de alimentar a los alevines para facilitar el consumo de alimento. Una vez finalizado el tratamiento se proporcionó una dieta comercial al 50 % de proteína por 10 días. En total, el cultivo de alevines dentro de los acuarios duró 30 días (20 días de tratamiento hormonal y 10 días más en los acuarios con alimento comercial).

Durante las mediciones (biometrías) se colectaron al azar por acuario aproximadamente el 25 % de los alevines. En el periodo de alevín las biometrías se realizaron cada 10 días. En cada muestreo se obtuvo el peso

húmedo promedio con una balanza digital con capacidad de 2,000 g \pm 0.01 y la longitud estándar utilizando un software digital (ImageJ).

5.5.4. Crecimiento de juveniles en estanques de ferrocemento con recirculación

Después de 30 días en los acuarios, todos los prejuveniles de cada uno de los tratamientos se contaron para calcular la supervivencia y se realizó una biometría final. Los prejuveniles supervivientes de cada tratamiento se colocaron en 5 estanques de ferrocemento de acuerdo con la concentración de DES y el grupo control para su crecimiento (Figura 9 del Apéndice). Los estanques contaron con agua con microalgas y los peces fueron cultivados hasta su madurez sexual (aproximadamente cinco meses). Durante este tiempo se alimentaron con alimento comercial al 44 % de proteína por dos meses, seguido de alimento al 40 % y 35 % por un mes más y finalmente al 25 % de proteína por otro mes en la etapa de engorda hasta finalizar la etapa de desarrollo.

Durante el periodo juvenil y hasta que alcanzaron la madurez sexual (aproximadamente 5 meses) para las biometrías se colectaron muestras al azar de aproximadamente 60 peces por tanque. Las biometrías se realizaron en este periodo cada 21 días. Se registró el peso húmedo de cada pez utilizando una balanza digital y la longitud estándar utilizando un software digital (ImageJ).

5.5.5. Análisis de proporción de sexos

La evaluación de la proporción de sexos se realizó por medio de la examinación externa de la papila genital, usando azul de metileno al 1 % para

ayudar a la observación de las estructuras gonadales. Adicionalmente 60 peces por sexo fueron pesados (g), medidos (cm) y sexados de nuevo extrayendo las gónadas. Las gónadas extraídas fueron pesadas utilizando una balanza digital para determinar el índice gonadosomático. Las gónadas se clasificaron en ovario y testículos.

5.5.6. Análisis estadístico

Las diferencias entre la longitud estándar, peso húmedo e índice gonadosomático se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía. El porcentaje de hembras y machos obtenidos fueron transformados a una función coseno antes de su análisis por medio de un análisis de varianza de una vía, donde se utilizó el paquete estadístico SAS y al observar diferencias significativas, las medias se compararon utilizando la prueba de Tukey ($P < 0.05$) (Zar, 1984).

6. RESULTADOS

6.1. Crecimiento durante el periodo de alevín

El incremento en peso registró diferencias significativas en la segunda y tercera biometría ($P < 0.05$), con el grupo control mostrando los valores significativamente más altos al compararlo con los grupos tratados. Dentro de los grupos tratados no se registraron diferencias significativas en ninguna de las biometrías realizadas (Figura 1).

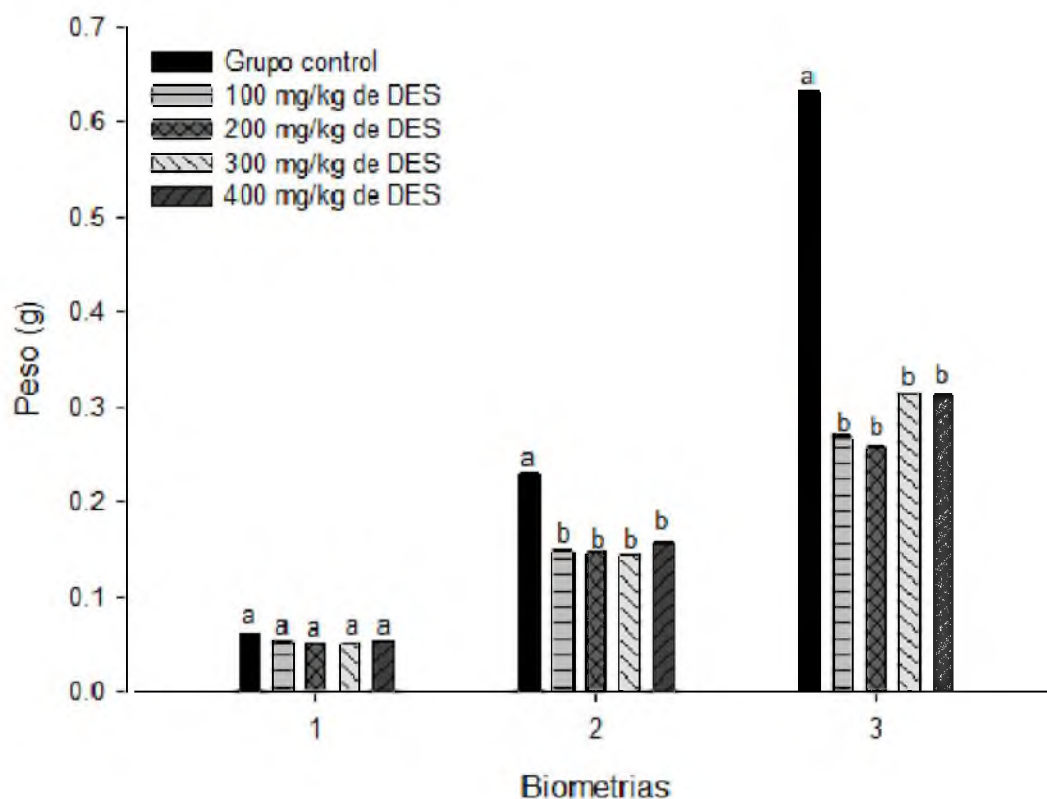


Figura 1. Peso en alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con dietilestilbestrol (DES), a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático.

Promedios con la misma letra dentro de cada biometría, indica diferencia significativa ($P < 0.05$).

El incremento en longitud total, al igual que el peso, registró diferencias significativas ($P<0.05$) en la segunda y tercera biometría, donde el grupo control presentó los valores más altos. El grupo que recibió la concentración de 300 mg/kg de DES registró una longitud más larga al compararla con la longitud observada en las concentraciones de 100 y 200 mg/kg de DES en la tercera biometría (Figura 2).

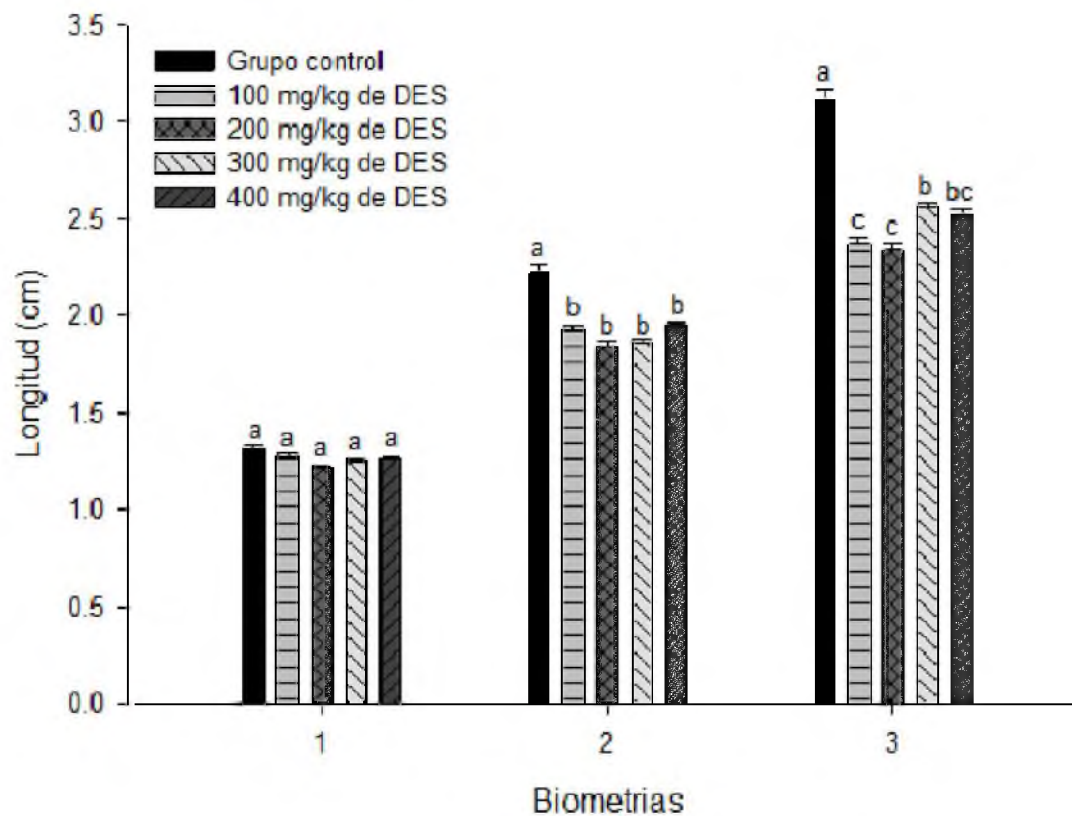


Figura 2. Longitud en alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con dietilestilbestrol (DES), a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático.

Promedios con la misma letra dentro de cada biometría indica diferencia significativa ($P<0.05$).

6.2. Crecimiento durante el periodo juvenil y de engorda

El incremento en peso observado registró diferencias significativas en todas las biometrías realizadas ($P < 0.05$), donde el grupo control, mostró los valores más altos en todas las biometrías. No se observaron diferencias significativas entre los grupos tratados, excepto en la primera y segunda biometría, con el grupo que recibió la concentración de 300 mg/kg de DES arrojando los valores significativamente más altos (Figura 3).

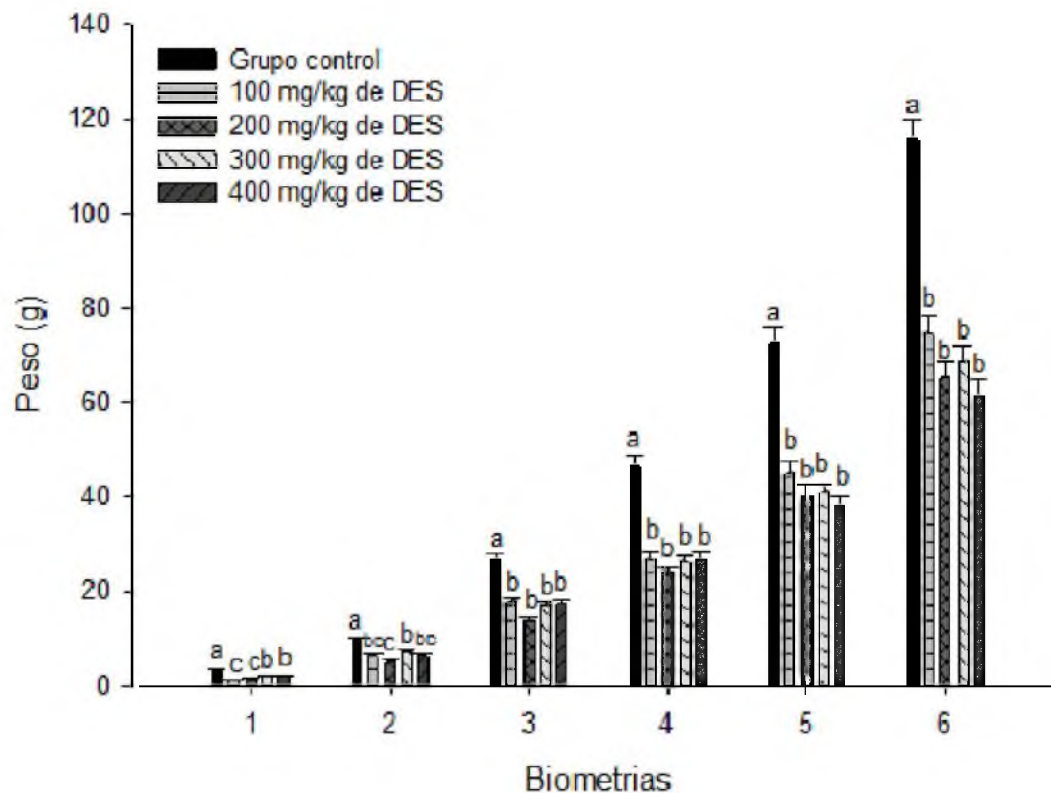


Figura 3. Peso durante el periodo juvenil y engorda en individuos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con dietilestilbestrol (DES), a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático. Promedios con la misma letra dentro de cada biometría, indica diferencia significativa ($P < 0.05$).

El incremento en longitud total durante este periodo, al igual que el peso, presentó diferencias significativas ($P<0.05$) en todas las biometrías realizadas. El grupo control mostró los valores de longitud más grandes durante todo el periodo. Los valores de longitud más bajos fueron observados en las primeras tres biometrías en los grupos alimentados con 100 y 200 mg/kg de DES. No se observaron diferencias entre los grupos alimentados con DES en las últimas tres biometrías (Figura 4).

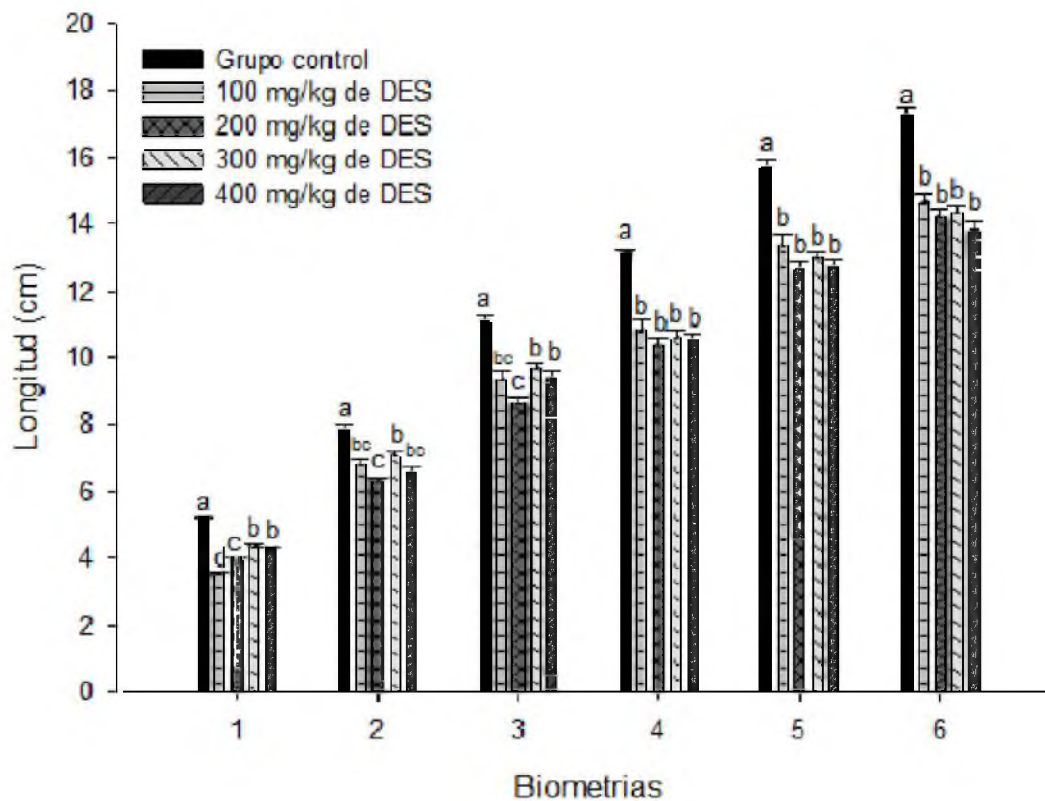


Figura 4. Longitud en el periodo juvenil y engorda en individuos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con dietilestilbestrol (DES), a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático. Promedios con la misma letra dentro de cada biometría, indica diferencia significativa ($P<0.05$).

6.3. Proporción de sexos e índice gonadosomático

Los resultados obtenidos en la biometría final, incluyendo la proporción de sexos e índice gonadosomático se presentan en el Cuadro 2. Durante esta biometría la tilapia del Nilo era madura sexualmente, lo cual permitió un rápido sexado manual. Se obtuvo una supervivencia más alta en el grupo control (> 90 %), mientras que entre los grupos alimentados con DES, la concentración de 300 mg/kg presentó el valor más alto, seguido por las concentraciones de 400, 100 y 200 mg/kg de DES, las cuales presentaron una mortalidad del 50 %.

Cuadro 2. Porcentaje de supervivencia, proporción de sexos, peso, longitud e índice gonadosomático en adultos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con dietilestilbestrol, a diferentes concentraciones, durante el periodo de alevín.

	NPA*	S	Machos	Hembras	Peso	Longitud	IGS
Grupo control	60	92	61	39	137.31 ^a	18.86 ^a	1.52 ^a
100 mg/kg	60	55	38	62	108.76 ^b	17.02 ^b	0.74 ^b
200 mg/kg	60	50	33	67	89.22 ^b	16.00 ^b	0.39 ^b
300 mg/kg	60	73	36	64	90.54 ^b	15.98 ^b	0.35 ^b
400 mg/kg	60	57	9	91	104.67 ^b	16.86 ^b	0.45 ^b

*NPA=número de peces analizados, IGS=índice gonadosomático, S=porcentaje de supervivencia.

Valor con diferente letra en la misma columna, indica diferencia significativa ($P < 0.05$).

El menor porcentaje de hembras se obtuvo en el grupo control, mientras el más alto fue para el grupo alimentado con 400 mg/kg de DES. Se observaron diferencias entre grupos ($P < 0.05$) para la variable índice gonadosomático, donde el grupo control mostró los valores más altos. Un comportamiento similar al anterior se observó en el peso y longitud, donde los valores más altos se obtuvieron en el grupo control. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos alimentados con la hormona dietilestilbestrol.

7. DISCUSIÓN

El sector acuícola ha logrado avances significativos en el aumento de la producción y protección ambiental. Sin embargo, dicho sector está siendo criticado en la actualidad por contribuir a la degradación del hábitat acuático por medio de la liberación de efluentes que incluyen alimentos sin consumir, heces, hormonas y escape de peces cultivados (FAO, 2009).

La tendencia actual tanto de mercado, como de investigación realizada, es dirigida a una disminución del uso de hormonas para obtener poblaciones monosexuales. Lo anterior hace necesario el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan generar poblaciones monosexuales, exclusivamente de machos, a través de métodos más acordes a mantener el ambiente. Una de estas tecnologías es la producción de machos YY (Mair *et al.*, 1997). Aunque en primera parte de la técnica se requiere utilizar hormonas para feminizar alevines, con el objetivo de obtener hembras XY, estas son empleadas en pequeñas cantidades, además de que el producto final (peces para venta) no es hormonado, lo cual reduce significativamente la cantidad de hormonas en los efluentes de la granja (Mair *et al.*, 1997). Lo anterior contribuye, adicionalmente, a mejorar la producción y rentabilidad de la granja, ya que se reduce los costos de la hormona, así mismo se protegen y conservan los cuerpos de agua cercanos a la granja. Esto garantiza la toma de decisiones inteligentes que protejan a la sociedad y el medio ambiente, permitiendo al mismo tiempo el desarrollo del sector.

Sin embargo, la feminización es una de las etapas críticas durante la producción de machos YY. La generación e identificación de hembras con

genotipo XY (machos feminizados) asegurará la obtención de un adecuado número de machos YY. Aunque la feminización, al igual que la masculinización se alcanza principalmente a través de la adición de hormona al alimento, el cual se proporciona durante las etapas tempranas del periodo de alevín (Mair *et al.*, 1997; Piferrer, 2001). Se ha reportado que los estrógenos, ya sean naturales o sintéticos no tienen efecto en el crecimiento de peces, a diferencia de los andrógenos (hormonas masculinizantes) (Johnstone *et al.*, 1979). Sin embargo, varios autores han observado una mejoría en el crecimiento utilizando estrógenos, tanto naturales como sintéticos en algunas especies de peces óseos (Varadaraj, 1989; Chiba *et al.*, 1993).

7.1. Supervivencia

Piferrer (2001) menciona que la posibilidad de efectos negativos en la supervivencia causados por la aplicación de estrógenos, ya sean naturales o sintéticos, está relacionada con un número de factores, entre los que destacan. la especie, concentración hormonal y duración del tratamiento. Por tanto, la aplicación de estrógenos puede afectar negativamente la supervivencia en la mayoría de especies de teleósteos, en especial si el límite, el cual depende de cada especie, es sobrepasado. Esto coincide con lo reportado en la tilapia del Nilo por Hamdoon *et al.* (2013), quienes encontraron un descenso en la supervivencia de grupos alimentados con dietilestilbestrol por 40 días, con las concentraciones de 50 y 100 mg/kg de alimento. Sin embargo, Varadaraj (1989) en la tilapia mossambica (*O. mossambicus*), no encontró mortalidad significativa al utilizar concentraciones elevadas (500 y 1000 µg/g) por 11 días de

dietilestilbestrol. Este autor observó que, la supervivencia más baja fue de 74 % al utilizar 1000 µg/g. Sin embargo, Zhong *et al.* (2005) en otra especie de la familia de los Ciprínidos, el minnow chino (*Gobiocypris rarus*), observaron una reducción del 50 % de supervivencia en grupos expuestos a tres diferentes concentraciones (0.5, 1 y 5 µg/l) de dietilestilbestrol por 30 días. Estos resultados concuerdan con lo observado en el presente estudio, donde la supervivencia mostró una reducción drástica, aproximadamente del 50 % a partir de la concentración más baja de dietilestilbestrol. Se observó un descenso de la supervivencia al incrementar la concentración, tal como ocurrió en el trabajo de Zhong *et al.* (2005).

Shved *et al.* (2009) reportaron que los estrógenos pueden inhibir el sistema local endocrino y autocrino/paracrino del factor de crecimiento I (insulin-like growth factor I), lo cual puede interrumpir el crecimiento y la diferenciación del bazo de manera casi permanente y, por lo tanto, interferir con la capacidad del sistema inmune para combatir infecciones. Esto puede explicar, la reducción sostenida y no escalonada de la supervivencia en todos grupos alimentados con dietilestilbestrol.

En el presente estudio es probable que haya ocurrido un efecto aditivo entre factores, tales como la hormona administrada, técnica de crianza utilizada y las variables ambientales, en especial la temperatura. De acuerdo con Shved *et al.* (2009), es factible que la hormona haga mas susceptibles a los alevines a dichos factores, incrementando de manera significativa su mortalidad durante el periodo experimental. El hecho de que el sistema utilizado para criar los alevines fue utilizado por primera vez pudo haber contribuido a la mortalidad

observada. La supervivencia de alevines, ya sensibles inmunológicamente a la acción de la hormona, quizá disminuyó por las variaciones drásticas en los parámetros ambientales y deficiente estandarización de los protocolos de limpieza y recambio de agua. Es probable que utilizando este u otro sistema de crianza más afinado, a través del uso constante pudo haberse reducido la mortalidad observada.

7.2. Crecimiento

Algunos esteroides sintéticos han demostrado ser agentes promotores del crecimiento cuando son administrados en bajas concentraciones. Sin embargo, ha sido reportado en varias especies de peces una reducción del crecimiento, ocasionado por una exposición a esteroides sintéticos, especialmente al incrementar la dosis de estrógenos (Piferrer, 2001).

La reducción observada del crecimiento en los grupos alimentados con dietilestilbestrol concuerda con lo reportado por Ridha y Lone (1995), quienes mencionan que los estrógenos por lo general no muestran un efecto anabólico en la mayoría de los teleósteos. Asimismo, Hamdoon *et al.* (2013) observaron, una reducción del crecimiento después de alimentar alevines de la tilapia del Nilo con diferentes concentraciones de dietilestilbestrol por 40 días.

En el presente estudio, la reducción observada en el crecimiento de los grupos alimentados con dietilestilbestrol se presentó a partir de la concentración más baja y se mantuvo al incrementar la concentración. Resultados diferentes fueron reportados por Varadaraj (1989) en tilapia mossambica. En este caso al incrementar la concentración de dietilestilbestrol, el crecimiento de los juveniles

se incrementó significativamente, en comparación con el grupo control. Esta diferencia de resultados, probablemente se debió a una respuesta fisiológica diferencial entre especies.

Una disminución del crecimiento también ha sido observada en el bagre europeo (*Silurus glanis*), al utilizar diferentes concentraciones de dietilestilbestrol (Król *et al.*, 2014), aunque no se observó una reducción del crecimiento al utilizar el estradiol-17 β , el cual es un estrógeno natural. Resultados similares han sido observados a nivel de laboratorio, al probar tres diferentes estrógenos: estradiol-17 β , etinilestradiol y dietilestilbestrol a una misma concentración. En este estudio, el estradiol-17 β fue el estrógeno que registró el mayor crecimiento y menor mortalidad en el grupo expuesto. Es probable que la tilapia del Nilo sea más susceptible al uso de estrógenos sintéticos, cuyo efecto es mucho más potente a nivel fisiológico (Lázaro-Velasco, 2014).

Es probable que el efecto anabólico del dietilestilbestrol observado originalmente en aves y bovinos se manifieste en la tilapia mossambica (Varadaraj, 1989) y no en la tilapia del Nilo. Al respecto, Herman y Kincaid (1988) han demostrado que diferentes rutas metabólicas pueden estar presentes en estas especies. La reducción del peso corporal y longitud del cuerpo pueden ser causadas por los efectos de compuestos sintéticos sobre la síntesis de los niveles de vitelogenina (VTG) (Zhong *et al.*, 2005). Sin embargo, se requieren más estudios para confirmar lo anterior.

7.3. Feminización

Hamdoon *et al.* (2013) reportan un incremento en la proporción de hembras conforme se aumenta la concentración de dietilestilbestrol. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, donde la concentración de 400 mg/kg fue la que produjo la mayor proporción de hembras (91 %), en comparación con el resto de las concentraciones utilizadas y grupo control. Sin embargo, otros autores para la tilapia del Nilo (Hopkins *et al.*, 1979; Potts y Phelps, 1995; Hamdoon *et al.*, 2013), no obtuvieron el 100 % de hembras al utilizar diferentes concentraciones de dietilestilbestrol. Aunque, Basavaraj *et al.* (1990) lograron obtener el 100 % de feminización en tilapia mossambica utilizando una concentración de 50 mg/kg de dietilestilbestrol, la cual se administró durante 30 días.

El porcentaje obtenido en el presente estudio (91%), aunque no fue del 100 % de feminización, es un valor alto al compararlo con otros porcentajes reportados para la tilapia del Nilo. Por ejemplo, 80 % con una concentración de 400 mg/kg de dietilestilbestrol administrado por 28 días (Potts y Phelps, 1995) y 87 % utilizando 100 mg/kg de dietilestilbestrol administrado durante 40 días (Hamdoon *et al.*, 2013).

Los porcentajes de feminización observados en este estudio, demuestran que el proceso de feminización es más difícil, en comparación con el proceso de masculinización en tilapia del Nilo. La efectividad del dietilestilbestrol para feminizar puede depender de la especie, de las condiciones del manejo (técnicas de crianza), de las interacciones entre factores genotípicos (factores parentales y de la determinación del sexo) y el medio ambiente (en especial la

temperatura). Estos rasgos son complejos y pueden presentar diferentes grados de interacción en función de la constitución genética y la fuerza relativa de los factores sexuales de cada especie (Mylonas *et al.*, 2005).

Es importante señalar que en el presente estudio el grupo control presentó un porcentaje de machos aproximado de 61 %, el cual es significativamente superior al 50 % esperado cuando la diferenciación sexual se lleva a cabo de manera natural. Esto indica que hubo una tendencia de una mayor proporción de machos. De acuerdo con Baroiller *et al.* (2009) esta tendencia pudo haber sido impulsada por las hembras o machos utilizados como reproductores, o bien, por factores ambientales, principalmente la temperatura de cultivo durante el periodo de alevín. Sin embargo, en este estudio es probable que la tendencia hacia una mayor proporción de machos, sea resultado de la interacción de efectos parentales, a nivel genético, ya que la temperatura utilizada fue de 25 °C, la cual es la óptima, para inducir una masculinización gonadal (Wang y Tsai, 2000). Es probable que esta tendencia haya afectado los porcentajes de feminización obtenidos, ya que no se logró obtener un 100 % de hembras incluso en las dosis más elevadas.

Se ha indicado que en la tilapia del Nilo, se puede obtener una feminización del 100 % combinando una hormona estrógena, tal es el caso del dietilestilbestrol y bajas temperatura durante el cultivo del alevín. Estudios previos, realizados en laboratorio confirmaron la obtención de un 100 % de feminización utilizando 120 mg/kg de dietilestilbestrol y una temperatura de cultivo de 21 °C (Lázaro-Velasco, 2014), Es probable que en la tilapia del Nilo sea necesario combinar ambos factores para alcanzar una población

monosexual de hembras, a partir de las cuales sea posible obtener una gran proporción de hembras XY.

7.4. Índice gonadosomático

El valor del índice gonadosomático es un indicador de la madurez sexual del pez y por consiguiente de su estado de salud y nutrición. Estudios recientes han demostrado que una exposición continua de los peces a hormonas sintéticas puede inducir deterioro en el desarrollo gonadal, ya que se ha observado una reducción en el índice gonadosomático, y cambios morfológicos e histológicos de las gónadas (Linderoth *et al.*, 2006; Marchand *et al.*, 2008; Louiz *et al.*, 2009).

En el presente estudio, el grupo control mostró los valores más altos de índice gonadosomático, en comparación con aquellos expuestos a diferentes concentraciones de dietilestilbestrol. Estos resultados concuerdan con los reportados por Zhong *et al.* (2005) en *Gobiocypris rarus*, donde observaron una reducción del índice gonadosomático en grupos expuestos a diferentes concentraciones de dietilestilbestrol, así como una reducción del crecimiento, bajo peso corporal y menor tamaño corporal en comparación con el grupo control. Es posible que los efectos negativos del dietilestilbestrol sobre el índice gonadosomático influyan directamente en la reducción del crecimiento observado en los grupos expuestos a la hormona. Un menor crecimiento se reflejaría en un menor desarrollo gonadal. Sin embargo, durante el desarrollo del experimento, se observaron malformaciones en la estructura de las gónadas en más del 20 %, especialmente en los machos de los grupos expuestos al

dietilestilbestrol. Piferrer (2001) mencionó que la presencia de anomalías en las gónadas, puede ser causada por el uso directo de altas concentraciones de hormonas estrógenas, proporcionadas a través de la dieta. Song *et al.* (2014) reportan para el pez dorado (*Carassius auratus*), principalmente reducciones significativas en el índice gonadosomático cuando a los peces se les administra dosis altas de estrógenos.

Es probable que las malformaciones observadas en las gónadas estén relacionadas con el menor crecimiento observado, en comparación con el grupo control. Sin embargo, el alto porcentaje de malformaciones en los individuos analizados, no permiten precisar que el efecto negativo del dietilestilbestrol en el desarrollo gonadal sea por la acción directa en el desarrollo del tejido y estructura gonadal. Al respecto, Haux y Norberg (1985) y Washburn *et al.* (1993) reportan efectos negativos de las hormonas estrógenas durante el desarrollo, en el funcionamiento del hígado de los peces, ya que el hígado y gónadas se relacionan estrechamente a través de la acción de hormonas esteroideas. Por tanto, es posible que el efecto negativo sobre el desarrollo de la gónada también se presente en el desarrollo del hígado.

Aunque las dosis utilizadas no produjeron un 100 % de hembras, se considera a nivel fisiológico que las concentraciones son altas, lo cual provocó un efecto negativo en el desarrollo de las gónadas, tanto en estructura fisiológica como funcionamiento. Milnes *et al.* (2006) reportan que la exposición de peces a estrógenos puede ocasionar en machos la inhibición del crecimiento testicular, o bien, atrofia de los testículos, debido a lesiones testiculares, como fibrosis testicular y alteraciones histológicas. Lo anterior, explica la presencia

elevada de malformaciones en las gónadas observada en los machos expuestos a dietilestilbestrol.

8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos y en las condiciones en que se desarrolló el estudio, se concluye que con la inclusión de dietilestilbestrol en la dieta de los peces es posible aumentar la proporción de hembras. Sin embargo, altas concentraciones de dicha hormona no garantizan feminización del 100 % en la tilapia del Nilo.

La aplicación de las altas concentraciones de dietilestilbestrol utilizadas en el presente experimento no incrementó la tasa de crecimiento en la tilapia del Nilo.

La supervivencia de individuos expuestos a dietilestilbestrol se redujo a partir de la concentración más baja probada, probablemente debido a la disminución de la capacidad del sistema inmune para combatir infecciones.

La estructura de la gónada y el crecimiento de los peces expuestos a concentraciones altas de dietilestilbestrol fueron afectados negativamente al utilizar dietilestilbestrol.

A la luz de los resultados obtenidos, se recomienda probar dosis bajas de dietilestilbestrol y combinarlas con temperaturas bajas de cultivo (21 °C) durante el periodo de alevín, para de esta forma maximizar la proporción de hembras obtenidas, sin reducir significativamente la tasa de crecimiento, supervivencia e índice gonadosomático. Temperaturas frías de cultivo han sido probadas con éxito previamente en la tilapia del Nilo en nuestro laboratorio.

9. LITERATURA CITADA

- Baroiller, J. F., D`cotta, H., Bezault, E., Wessels, S. y Hoerstegen-schawark, G. 2009. Tilapia sex determination: where temperature and genetics meet. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A. Molecular & Integrative Physiology*, 153(1):30-8.
- Bavera, G., Occo, O., Beguet, H. y Petryna, A. 2002. Promotores de crecimiento y modificadores del metabolismo. Cursos de producción bovina de carne. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. 4 p.
- Basavaraj, N., Nandeesha, M. C., Varghese, T. J., Keshavanath, P. y Srikanth, G. K. 1990. Induction of sex reversal in *Oreochromis mossambicus* by diethylstilbestrol. *Journal of Applied Ichthyology*, 6:46-50.
- Bogart, M. H. 1987. Sex determination: a hypothesis based on steroid ratios. *Journal of Theoretical Biology*, 128:349-357.
- CONAPESCA, 2011. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2011. Disponible en: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca. Consultado: agosto, 2014.
- Chiba, H., Iwatsuk, K., Hayami, K. y Yamauchi, K. 1993. Effect of dietary estradiol-17 β on feminization, growth and body composition in the Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Comparative Biochemistry and Physiology part A.*, 106:367-372.
- Contreras-Sanchez, W. M., Marquez-Couturier, G., Feist G., Hernandez-Franyutti, A., Scherck, C. B, y Giannico, G. 2003. Diversification of aquacultural practices by incorporation of native species and implementation of alternative sex inversion techniques. *Pond*

Dynamics/Aquaculture collaborative research support program. Tenth work plan: appropriate technology. 10:85-89.

Daza, V. P., Parra, L. y Ochoa, S. 2005. Reproducción de los peces en el trópico. Universidad Nacional de Colombia. INCODER. 241 p.

Desprez, D., Mélard, D. C., Hoareau, M. C., Bellemene, Y., Bosc, P. y Baroiller, J. F. 2003. Inheritance of sex in two ZZ pseudofemales lines of tilapia *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 218:131-140.

Devlin, R. H. y Nagahama, Y. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208:191-364.

FAM, 2014. Fuerza Aérea Mexicana. Estadística Meteorológica Mensual. Dirección de Servicio Meteorológico. Estación Loma Bonita, Oaxaca, México.

FAO, 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Tomado de fisheries global information system (FIGIS). Disponible en: <http://www.fao.org/fisheryes/figis/es> y http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es consultado: agosto, 2014.

FAO, 2009. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Desarrollo de la Acuicultura 3. Gestión de los recursos genéticos. Orientaciones Técnicas para la Pesca Responsable. 145 p.

Green, B. N. W., Veverica, K. L. y Fitzpatrick, M. S. 1997. Fry and fingerlings production. In: Eгна, H. and Boyd C. (eds.). *Dynamics of Pond Aquaculture*, 215-243.

Guerrero, R. 1975. Use of androgens for the production of all-male tilapia aurea (Steindachner). *Transactions of the American Fisheries Society*, 2:342-348.

- Hamdoon, N. T., Ibrahim, F., Kelany, A. M., Hanan, F. Elshazly, y Zayed, A. E. 2013. Hormonal sex reversal in *Oreochromis niloticus* by oral administration of diethylstilbestrol. *Life Science Journal*, 10(2):123-128.
- Hackmann, E. y Reinboth, R. 1974. Delimitation of the critical stage of hormone-influenced sex differentiation in *hemihaplochromis multicolor* (Hilgendorf) (Cichlidae). *General and Comparative Endocrinology*, 22(1):42-53.
- Haux, C. y Norberg, B. 1985. The influence of estradiol-17 β on the liver content of protein, lipids, glycogen and nucleic acids in juvenile rainbow trout, *salmo gairdneri*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 72:165-172.
- Herman, R. L. y Kincaid, H. L. 1988. Pathological effects of orally administered estradiol to rainbow trout. *Aquaculture*, 72:165-172.
- Hopkins, K. D.; Shelton, W. L. y Engle, C. R. 1979. Estrogen sex-reversal of *Tilapia aurea*. *Aquaculture*, 18:263-268.
- Jiménez, B. M. L. y Arredondo, F. J. L. 2000. Manual técnico para la reversión sexual de tilapia. UAM-Iztapalapa, México, D.F. 36 p.
- Johnstone, R., T. H. Simpson y Walker A. F., 1979. Sex reversal in salmonid culture. Part III. The production and performance of all female populations of brook trout. *Aquaculture*, 16:241-252.
- Król, J., Poblocki, W., Bockenheimer, T. y Hliwa, P. 2014. effect of diethylstilbestrol (DES) and 17 β -estradiol (E2) on growth, survival and histological structure of the internal organs in juvenile European catfish *Silurus glanis* (L.). *Aquaculture International*, 22:53-62.
- Lázaro-Velasco, A. J. 2014. Efecto de la temperatura y hormonas exógenas en el desarrollo de la tilapia del Nilo. Instituto tecnológico de la cuenca del Papaloapan. pp. 78.
- Linderoth, M., Hansson, T., Liewenborg, B., Sundberg, H., Noaksson, E., Hanson, M., Zebühr, Y. y Balk, L. 2006. Basic physiological biomarkers in

adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Journal of Marine Pollution Bulletin*, 53(8–9):437–450.

Louiz, I., Ben-Attiab, M. y Ben-Hassinea, O. 2009. Gonadosomatic index and gonad histopathology of *Gobius niger* (Gobiidea, Teleost) from Bizerta lagoon (Tunisia): Evidence of reproduction disturbance. *Fisheries Research*, 100:266-273.

Marchand, M. J., Pieterse, G. M. y Barnhoorn, I. J. 2008. Preliminary results on sperm motility and testicular histology of two feral fish species, *Oreochromis mossambicus* and *Clarias gariepinus*, from a currently DDT-sprayed area, South Africa. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(4):423-429.

Mair, G. C., Nam, Y. K. y Solar, I. I. 2007. Risk management: reducing risk through confinement of transgenic fish. In: Kapuscinski, A. R., Hayes, K. R., Li, S., Dana, G., (eds). *Environmental risk assessment of genetically modified organisms, Volume 3: Methodologies for transgenic fish*. CABI Publishing, Cambridge: pp 209-238.

Mair, G. C., Abucay, J. S., Skibinski, D. F. y Beardmore, J. A. 1997. Genetic manipulation of sex ratio for the large scale production of all-male tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54:396-404.

Milnes, M. R, Bermudez, D. S., Bryan, T. A., Edwards, T. M., Gunderson, M. P., Larkin, I. V., Moore, B. C. y Guillette, L. J. Jr. 2006. Contaminant-induced feminization and demasculinization of nonmammalian vertebrate males in aquatic environments. *Environmental Research*, 100:3-17.

Mylonas, C. C., Anezaki, L., Divanach P., Zanuy S. y Piferrer, F. 2005. Influence of rearing temperature during the larval and nursery periods on growth

and sex differentiation in two Mediterranean strains of *Dicentrarchus labrax*. *Journal of Fish Biology*, 67:652-668.

Nguyen, N. H. L. Khaw, R. W. Ponzoni, A., Hamzah, y Kamaruzzaman N. 2007. Can sexual dimorphism and body shape be altered in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by genetic means?. *Aquaculture*, 272:38-46.

Piferrer, F. 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, 197:229-281.

Piferrer, F. y Donaldson, E. M. 1993. Sex control in Pacific salmon. In: Muir, J.F. and Roberts, R.J. (Eds.). *Recent Advances in Aquaculture*, vol. IV, Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp 67-77.

Ponzoni, R. W., Hamzah, A., Tan, S. y Kamaruzzaman, N. 2005. Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 247:203-210.

Potts, A. C. y Phelps, R. P. 1995. Use de diethylstilbestrol and ethynylestradiol to feminize Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) in an outdoor environment. *Journal of applied ichthyology*, 11(1-2):111-117.

Phelps, R. P. y Popma, T. J. 2000. Sex reversal of tilapia. *Tilapia Aquaculture in the Americas*, Vol. 2. Baton Rouge, Louisiana: The World Aquaculture Society. pp 34-59.

Ridha, M. T. y Lone, K. P. 1995. Preliminary studies on feminization and growth of *Oreochromis spilurus* (Gunther) by oral administration of 17 α -ethinyloestradiol in sea water. *Aquaculture Research*, 26:475-482.

Rosenstein, S. y Hulata, G. 1994. Sex reversal in the genus *Oreochromis*: optimization of feminization protocol. *Aquaculture and Fishery Management*, 25:329-339.

Shved, N., Berishvili, G., Häusermann, E., D'Cotta, H., Baroiller, J. F. y Eppler, E. 2009. Challenge with 17 α -ethinyloestradiol (EE2) during early

- development persistently impairs growth, differentiation, and local expression of IGF-I and IGF-II in immune organs of tilapia. *Fish and Shellfish Immunology*, 26(3):524-530.
- Song, T. W., Wang, J. Z. y Liu, C. H. 2014. Effects of individual and binary mixtures of estrogens on male goldfish (*Carassius auratus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 1-9.
- Varadaraj, K. 1989. Feminization of *Oreochromis mossambicus* by administration of diethylstilbestrol. *Aquaculture*, 80:337-341.
- Van den Hurk, R., Slof, G. A. y Schurer, F. A. 1980. Gonadal sex differentiation in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, with special reference to effects of steroid hormones and N,N-dimethylformamide. *General and Comparative Endocrinology*, 40:323.
- Vidal, L. J. Contreras, S. W., Alvarez, G. C. Hernández, F. A. y Hernández, V. U. 2010. Técnicas de reversión sexual aplicadas en acuicultura. Laboratorio de acuicultura. División académica de ciencias biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 6 p.
- Wang, L. H. y Tsai, C. L. 2000. Effects of temperature on the deformity and sex differentiation of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, *Journal of Experimental Zoology Part A*. 286, 534-537.
- Washburn, B. S., Krantz, J. S., Avery, E. H. y Freedland, R. A. 1993. Effects of estrogen on gluconeogenesis and related parameters in male rainbow trout. *American Journal of Physiology*, 264:720-725.
- Wessels, S. y Hörstgen-Schwark, G. 2007. Selection experiments to increase the proportion of males in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by means of temperature treatment. *Aquaculture*, 272:80-87.
- Yamamoto, T. 1969. Sex differentiation. In: Hoar, W. S. y Randall, D. J. (Eds.), *Fish Physiology*, III. Academic Press. pp. 117-175.

Zar, J. H. 1984. Two-factor analysis of variance: Biostatistical Analysis. Englewood Cliffs, N. J. Prentice-Hall, Inc. pp. 206-235.

Zhong, X., Xu Y., Liang, Y, Liao, T. y Wang, J. 2005. The Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) as an in vivo model for endocrine disruption in freshwater teleosts: a full life-cycle test with diethylstilbestrol. *Aquatic Toxicology*, 71:85-95.

10. APÉNDICE

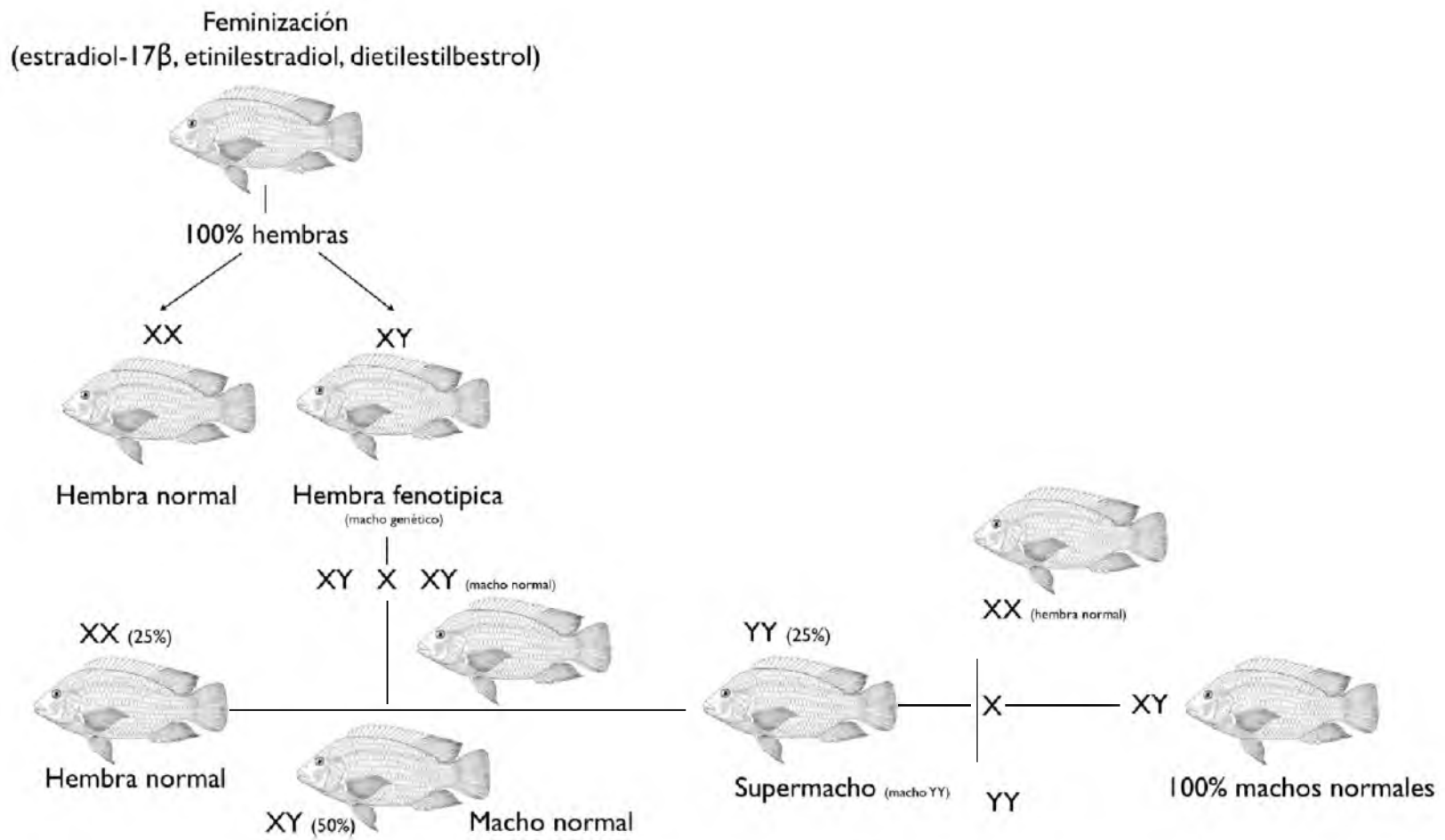


Figura 1. Diagrama de generación para la producción de peces supermachos YY.



Figura 2. Hormona estrogénica sintética dietilestilbestrol.



Figura 3. Alimento comercial al 53 % de proteína.



Figura 4. Disposición que presentó el alimento para la aplicación de las diferentes concentraciones de la hormona dietilestilbestrol.



Figura 5. Aplicación de la hormona dietilestilbestrol al alimento de afuera hacia adentro.



Figura 6. Homogeneización del alimento con la ayuda de una espátula.



Figura 7. Envasado, etiquetado y conservación del alimento en refrigeración a 4 °C.



Figura 8. Sistema de recirculación cerrada compuesto por 15 acuarios con capacidad de 85 l de agua cada uno.



Figura 9. Estanques de ferrocemento en la Unidad Acuícola Experimental de la Universidad del Papaloapan.