
EVALUACIÓN DE LA PROPORCIÓN DE SEXOS OBTENIDA EN LA TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADA CON HORMONAS ESTRÓGENAS Y CULTIVADA A UNA TEMPERATURA ELEVADA DURANTE EL PERIODO DE ALEVÍN

EVALUATION OF THE SEX RATIO OBTAINED IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) FED WITH ESTROGEN HORMONES AND REARED AT AN ELEVATED TEMPERATURE DURING THE FRY PERIOD

YEIMIS. LÓPEZ RAMÍREZ¹, JUAN PABLO ALCÁNTAR VÁZQUEZ^{1*}, DANIEL CALZADA RUIZ², RAÚL MORENO DE LA TORRE¹, CAROLINA ANTONIO ESTRADA¹

¹ Laboratorio de Acuicultura, Des: Ciencias Agropecuarias. Universidad del Papaloapan (UNPA). Av. Ferrocarril s/n, Col. Ciudad Universitaria, Loma Bonita, Oaxaca. C.P. 68400; ² Laboratorio de Acuicultura Tropical. División Académica de Ciencias Biológicas-Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (DACBIOL-UJAT). Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5 S/N, Entronque a Bosques de Saloya. Villahermosa, Tabasco, C.P. 86150.

Corresponding author: jupasoul@hotmail.com

RESUMEN

La tecnología para la producción de machos YY tiene como finalidad obtener poblaciones monosexo de la tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus*, libres de hormonas. Sin embargo, su primera etapa requiere la feminización de alevines XY. En el presente trabajo se probaron tres hormonas, estradiol-17 β (E₂), 17 α -etinilestradiol (EE) y dietilestilbestrol (DES) a una misma concentración (120 mg), a una temperatura de cultivo de 34°C durante el periodo de alevín. Esto con el objetivo de evaluar su efecto sobre la proporción de sexos, crecimiento e índice gonadosomático (IGS) de la tilapia de Nilo. El tratamiento se realizó por triplicado durante 17 días en acuarios de 85 L. La proporción de sexos se obtuvo mediante la observación macroscópica de las gónadas. Se alcanzó 100% de feminización utilizando el estrógeno 17 α -

etinilestradiol. La descendencia de los reproductores utilizados presentó una alta sensibilidad a la feminización.

Palabras claves: Machos YY, feminización, progenie, masculiización

ABSTRACT

The technology for the production of YY males aims to generate monosex populations of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* without using hormones. However, the first stage of this technology requires feminization of XY fry. In the present work we used three hormones, estradiol-17 β (E2), 17 α -ethinylestradiol (EE) and diethylstilbestrol (DES) (120 mg), at a rearing temperature of 34 °C during the fry period. This was done in order to evaluate its effect on sex proportion, growth and gonadosomatic index (IGS) of the Nile tilapia. The treatment was performed in triplicate for 17 days in aquariums of 85 L. Sex ratio was obtained by macroscopic observation of the gonads. A 100% of feminization was achieved using the estrogen 17 α -ethinylestradiol. The fry used showed a high sensitivity to feminization.

Keywords: YY males, feminization, progeny, masculinization.

INTRODUCCIÓN

La tilapia del Nilo es una especie apta para el cultivo en zonas tropicales y subtropicales (Jiménez y Arredondo, 2000). Sin embargo, un problema generalizado durante su cultivo, es su alta precocidad reproductiva, la cual ocasiona sobrepoblación dentro de los estanques y con ello la aparición de enfermedades provocadas por el estrés y un decremento de la calidad del agua. Adicionalmente, la maduración precoz trae como consecuencia que la tilapia del Nilo utilice la energía en la conducta sexual y maduración de los gametos, en lugar del crecimiento somático (Arboleda, 2005).

Para dar solución a la problemática de la maduración precoz, existen varias estrategias que permiten controlar o evitar la reproducción de tilapia del Nilo en condiciones de cultivo y con esto reducir los problemas de sobrepoblación dentro de los estanques. En la actualidad la reversión sexual a través de hormonas ha sido reconocida por muchos años como la técnica más eficiente para producir poblaciones monosexo, exclusivamente de machos, ya que estos muestran un mejor desempeño en cuanto a crecimiento y ganancia de peso (Jiménez y Arredondo, 2000; Hurtado, 2005; Daza *et al.*, 2005). Sin embargo, actualmente la utilización de hormonas para revertir el sexo dentro de la industria de la tilapia se ha convertido en un tema muy controvertido, ya que existe una creciente preocupación por la acumulación de hormonas naturales y sintéticas en los cuerpos de agua cercanos a las granjas y un gran número de consumidores demanda una producción amigable con el ambiente (Müller y Hörstgen, 2007; Leet *et al.*, 2011).

Una técnica alterativa consiste en el desarrollo de machos YY. El objetivo de producir reproductores YY de tilapia del Nilo, es que al cruzarlos con hembras normales (XX) se pueden

obtener poblaciones compuestas al 100% por organismos genéticamente machos (XY) sin el uso de hormonas (Varadaraj, 1989; Vera *et al.*, 1996; Mairet *et al.*, 1997). Sin embargo, aunque la técnica no requiere el uso de hormonas para producir las poblaciones monosexo que son comercializadas, 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 de alevines XY se lleva a cabo, al igual que la masculinización, a través de la aplicación de hormonas durante la etapa de alevín, cuando la gónada aún no se ha diferenciado. Lo anterior garantiza que se obtendrá una población compuesta por un 100 % de hembras, de las cuales el 50 % serán hembras XY. Estas hembras al cruzarse con machos normales (XY) arrojarán una descendencia compuesta por un 75 % de machos, del cual el 25 % tendrán un genotipo XX (hembras normales), un 50% tendrá un genotipo XY (machos normales) y un 25 % tendrá un genotipo YY (Mairet *et al.*, 1997).

Actualmente se sabe que la determinación del sexo en la tilapia del Nilo, dependiendo de factores genéticos parentales, es fuertemente influenciada por la temperatura. Lo anterior ha generado investigación encaminada a determinar si el efecto de la temperatura es lo suficientemente fuerte para influir significativamente en la proporción de sexos en poblaciones de tilapia (Beardmore *et al.*, 2001; Kwon *et al.*, 2002). Algunos investigadores han encontrado que las temperaturas elevadas estimulan una masculinización de las gónadas, mientras que temperaturas bajas pueden feminizar las gónadas (Desprez y Melard, 1998; Wang y Tsai, 2000; Karayuecelet *et al.*, 2002). El efecto de la temperatura, al igual que el efecto de las hormonas, se da en los primeros días de vida del alevín (Wang y Tsai, 2000), por lo cual es importante evaluar, su efecto bajo ciertas condiciones de cultivo, su interacción con hormonas estrógenas, así como su efecto en el crecimiento, pero especialmente, en el desarrollo gonadal. El objetivo del presente trabajo fue determinar la proporción de sexos obtenida en la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) tratada con hormonas estrógenas a una temperatura elevada (34°C) de cultivo durante el periodo de alevín.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reproductores y obtención de desoves. Se utilizó un grupo de reproductores de 12 a 14 meses de edad, compuesto por 12 hembras (300-350 g) y 6 machos (450-600 g). Los reproductores elegidos se distribuyeron en 2 estanques exteriores de ferrocemento de 3 m de diámetro, adicionados con agua verde. La proporción que se utilizó es de 2 hembras por cada macho. Los alevines se obtuvieron, aproximadamente de 14 a 18 días después de que se haya iniciado el periodo de reproducción, reduciendo el volumen del tanque mediante sifoneo y colectando los alevines con una malla fina.

Alimento hormonado. Para el proceso de feminización se utilizó alimento comercial tipo harina (Nutripec, Agribrands Purina®, México) con un porcentaje de proteína de 53%. La hormona se

adicionó al alimento siguiendo el método descrito por Guerrero (1975). Se utilizaron 3 tratamientos (hormonas) distintos, estradiol-17 β , 17 α -etinilestradiol y dietilestilbestrol, a una sola concentración (120 mg/kg). Se contó con un grupo control, al cual se le proporcionó el mismo tipo de alimento, con excepción de la hormona. Los alevines se alimentaron durante el tratamiento hormonal aproximadamente al 20% de su peso corporal diario, repartido en 11 raciones durante 17 días.

Alevines. Los alevines obtenidos fueron colectados y transferidos al laboratorio de Acuicultura, el cual cuenta con 12 acuarios de acrílico de 85 L de capacidad, conectados a un sistema de recirculación cerrado. Los alevines fueron sembrados a una densidad aproximada de 0.7 alevines/litro (60 organismos por acuario). Una vez sembrados los alevines, la temperatura del agua (27°C) se incrementó por medio de calentadores para acuarios de 200 watts de 27°C a 34°C en 24 horas aproximadamente. Se manejó un foto-periodo de 12 L: 12O. Todos los tratamientos se llevaron a cabo por triplicado. Una vez finalizado el tratamiento hormonal, la temperatura del agua se redujo aproximadamente 1°C cada dos horas hasta llegar a 27°C. Los alevines se alimentaron con una mezcla de harina al 53 % de proteína sin hormona y con alimento comercial al 50% de proteína tipo migaja de acuerdo a su etapa de crecimiento. Una vez finalizada la etapa de crecimiento en los acuarios, los pre-juveniles fueron sembrados en tanques de ferrocemento de 3 m de diámetro adicionados con agua verde. Durante esta etapa se proporcionó alimento siguiendo el protocolo establecido por Purina® (Agribands, Purina México) para la tilapia del Nilo. Evaluación de la proporción de sexos. Para evaluar la proporción de sexos obtenida en cada uno de los tratamientos, se analizó la forma de la papila genital de 60 individuos de cada tratamiento, utilizando azul de metileno al 1% para facilitar dicho proceso.

Análisis de datos. La proporción de sexos observada entre tratamientos fue comparada, utilizando una prueba de ji cuadrada, contra la proporción de sexos esperada para una población normal de tilapia del Nilo (50%). El índice gonadosomático obtenido fue transformado utilizando la función arcoseno y se analizó para normalidad y homocedasticidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la evaluación de la proporción de sexos se encuentran contenidos en el Tabla 1. La proporción de sexos obtenida en los grupos alimentados hormonalmente no mostró los efectos masculinizantes de la temperatura empleada. Solo el grupo control arrojó una proporción de machos ligeramente superior al 50%, el cual es lo esperado en la tilapia del Nilo a temperaturas normales de cultivo (27°C). Lo anterior nos indica que la temperatura empleada no fue lo suficientemente elevada para inducir una mayor producción de machos en el grupo control. Porcentajes de machos similares han sido obtenidos en nuestro laboratorio y por Contreras-Sánchez (2001) empleando temperaturas de 28 a 29°C. Es posible que para inducir un mayor porcentaje de machos sea necesario elevar la temperatura de cultivo por encima de los 34°C. A este respecto Wang y Tsai (2000) reportan que temperaturas de 36 a

38°C han sido empleadas para obtener altos porcentajes de machos en la tilapia del Nilo. En el presente trabajo, debido al diseño del sistema de recirculación empleado, solo se pudo elevar la temperatura a 34 °C.

Tabla 1. Porcentaje de supervivencia (S) y proporción de sexos obtenido en adultos de tilapia de Nilo *Oreochromis niloticus* alimentadas con diferentes tipos de hormonas estrógenos y cultivados a 34 ± 0.5 °C durante el periodo de alevín.

Dosis Hormonal mg Kg ⁻¹	NPA*	S (%)	Proporción de sexos (%)		
			Macho	Hembra	Indiferenciado
Control	60	88	57	42	1
Estradiol-17β	60	64	20	80 ¹	0
17α-etinilestradiol	37	45	0	100 ¹	0
Dietilestilbestrol	60	62	0	98 ¹	2

*NPA = Número de peces analizados. ¹Significativamente diferente de la proporción de sexos esperada 1:1 ($P < 0.001$). Los superíndices con diferentes letras sobre los resultados del IGS indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Los resultados obtenidos nos indican entonces que la temperatura empleada no fue lo suficientemente elevada para inducir una masculinización gonadal en un gran porcentaje de la progenie obtenida. Lo anterior explica los elevados porcentajes de feminización obtenidos con las tres hormonas utilizadas. Para cada una de las hormonas empleadas el porcentaje de hembras registrado es el más elevado que se ha obtenido al momento con nuestro grupo de reproductores (sin emplear temperaturas frías de cultivo); estradiol-17β 80% (máximo 67%), 17α-etinilestradiol 100 % (máximo 83%), dietilestilbestrol 98% (maximo 91%). De igual forma, estos porcentajes son altos si los comparamos con los porcentajes reportados en la literatura para la tilapia del Nilo a concentraciones hormonales similares; 66% para estradiol-17β, 90% para el 17α-etinilestradiol y finalmente 87% para el dietilestilbestrol (Potts y Phelps, 1995; Hamdoonet *al.*, 2013).

En experimentos realizados previamente en nuestro laboratorio por Lázaro (2014), utilizando una temperatura fría (21.5 °C) y las tres hormonas a la misma concentración utilizada en nuestro trabajo, obtuvo una tasa de feminización del 100% en prácticamente todos los tratamientos (incluido el grupo control), en comparación con la temperatura normal de cultivo (27 °C). Lo anterior concuerda con lo reportado por Wang y Tsai (2000) para la tilapia de Mozambique. En nuestro trabajo se utilizó el mismo lote de reproductores, por lo cual la sensibilidad a la temperatura observada a temperaturas frías era factible a temperaturas calientes. Tomando en cuenta dicha sensibilidad y considerando el efecto antagónico sobre la proporción de sexos que presentan las hormonas "feminizantes" empleadas y la temperatura "masculinizante" de cultivo, los porcentajes de feminización a obtenerse en este caso no eran predecibles, ya que podrían haber sido influenciados mayormente por la temperatura o bien por las hormonas. Lo anterior

hace muy interesante el presente trabajo, ya que arroja luz sobre la compleja interacción entre el sistema de determinación sexual de la tilapia del Nilo y los factores ambientales, en este caso la temperatura.

Una sensibilidad diferencial hacia temperaturas frías de cultivo por parte del grupo de reproductores empleado podría explicar por qué la temperatura empleada no fue lo suficientemente fuerte para inducir una elevada masculinización y los elevados porcentajes de feminización observados. A este respecto Baroiller et al. (2009) reportan que un claro efecto parental con respecto a la termosensibilidad con una influencia de ambos padres ha sido demostrado a nivel individual. Es decir, que tanto los machos como las hembras utilizadas pueden ser los responsables de la sensibilidad observada en los porcentajes de feminización.

CONCLUSIÓN

La acción de los estrógenos suministrados contrarrestó el efecto masculinizador de la temperatura de cultivo durante el periodo de alevín. Lo anterior observado en los elevados porcentajes de feminización obtenidos con los tres estrógenos empleados.

REFERENCIAS

- Arboleda-Obregón, D.A. (2005). Reversión Sexual de las Tilapias Rojas (*Oreochromis*Sp), una guía básica para el acuicultor. Revista Electrónica de Veterinaria, REDVET. Vol. VI, No 12. 1-5.
- Baroiller J. F., D’Cotta H, Saillant E., Wessels, S. y Hoerstegen- schawark, G. (2009). Tilapia sex determination: where temperature and genetics meet. Comparative Biochemistry and Physiology Part A. Molecular and Integrative Physiology, 153(1): 30-8.
- Beardmore, J.A., Mair. G.C. y Lewis, R.L. (2001). Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects. Aquaculture, 197: 283-301.
- CONAPESCA. (2011). Comisión Nacional de la Acuicultura y pesca. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2011. Disponible en <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona>.
- Contreras-Sánchez, W.M. (2001). Sex determination in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: gene expression, masculinization methods and environmental effects. Ph.D. Thesis. Oregon State University, Oregon, 193 pp.
- Daza, V. P., Parra, L. y Ochoa, S. (2005). Reproducción de los peces del trópico. Universidad Nacional de Colombia. INCODER. 241 p.
- Desprez, D. y Melard, C. (1998). Effect of ambient water temperature on sex determination in the blue Tilapia *Oreochromis aureus*. Aquaculture. 162: 79-84.
- Guerrero, R. (1975). Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). Transaction of the American Fisheries Society, 2:342-348.

- Hamdoon, N.T., Ibrahim, F., Kelany, A.M., Hanan, F., Elshazly, H. F. y Zayed, A. E. (2013). Hormonal sex reversal in *Oreochromis niloticus* by oral administration of diethylstilbestrol. *Life Science Journal*, 10(2): 123-128.
- Jiménez, B.M.L. y Arredondo, F.J.L. (2000). Manual Técnico para la reversión sexual de tilapia. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México, D.F. 36 p.
- Karayücel, I., Penman, D., Karayücel, S. y McAndrew, B. (2003). Thermal And Hormonal Feminization Of All Male YY Nile tilapia, *Oreochromis Niloticus*. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 55(2):114-122.
- Lázaro V. A. (2014). Efecto de la temperatura y hormonas exógenas en el desarrollo de la tilapia del Nilo. Tesis licenciatura, Instituto Tecnológico de la Cuenca del Papaloapan. 78 p.
- Kwon, J.Y., Mcandrew, B.J. y Penman, D.J. (2002). Treatment with an aromatase inhibitor suppresses high-temperature feminization of genetic male (YY) Nile tilapia. *Journal of Fish Biology*, 60: 625-636.
- Leet, K.J., Gall, E.H. y Sepulveda, M.S. (2011). A review of studies on androgen and estrogen exposure in fish early life stages: effects on gene and hormonal control of sexual differentiation. *Journal of Applied Toxicology*, 31: 379-398.
- Mair, G.C., Abucay, J.S., Skibinski, D.O.F., Abella, T.A. 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.
- Müller, B.A. y Hörstgen-Scharwk, G. 2007. Development of an YY-male Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Strain and Growth Performance Testing of the Genetically All Male Progenies. *DeutscherTropentag*, October. pp. 5-7, 2004, Berlin.
- 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.
- Varadaraj, K. (1989). Feminization of *Oreochromis mossambicus* by the administration of diethylstilbestrol. *Aquaculture*, 80: 337-341.
- Vera, C.E.M., Mair, G.C. y Marino, R.P. (1996). Feminization of genotypically YY Nile tilapia *Oreochromis niloticus*L. *Asian Fisheries Society*, 9: 161-167.
- 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.