

**UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
CAMPUS LOMA BONITA**

INGENIERÍA EN ACUICULTURA

**EVALUACIÓN DE LA PROPORCIÓN DE MACHOS Y CRECIMIENTO DE LA
TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADA A DIFERENTES
PERIODOS CON 17 α -METILTESTOSTERONA DURANTE EL PERIODO DE ALEVÍN**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ACUICULTURA**

**PRESENTA:
ADRIANA TREJO QUEZADA**

**DIRECTOR DE TESIS
DR. JUAN PABLO ALCÁNTAR VÁZQUEZ**

LOMA BONITA, OAXACA, MÉXICO. 2018.



Universidad del Papaloapan

Terra Uberrima. Mens Agerta

CLAVE: 20ESU3001N

Ingeniería en Acuicultura

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

LA PRESENTE TESIS TITULADA “EVALUACIÓN DE LA PROPORCIÓN DE MACHOS Y CRECIMIENTO DE LA TILAPIA DEL NILO *Oreochromis niloticus* (PISCES: CICHLIDAE), ALIMENTADA A DIFERENTES PERIODOS CON 17-ALFAMETILTESTOSTERONA DURANTE EL PERIODO DE ALEVÍN”, PRESENTADA POR LA PASANTE ADRIANA TREJO QUEZADA, BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. JUAN PABLO ALCÁNTAR VÁZQUEZ, HA SIDO REVISADA Y ACEPTADA POR EL JURADO EXAMINADOR PARA SER DEFENDIDA EN EL EXAMEN PROFESIONAL Y OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO EN ACUICULTURA.

JURADO EXAMINADOR

DR. JUAN PABLO ALCÁNTAR VÁZQUEZ

DIRECTOR

DR. NICOLÁS VALENZUELA JIMÉNEZ

REVISOR

M.C. DANIEL CALZADA RUÍZ

REVISOR

M. C. RAÚL MORENO DE LA TORRE

REVISOR

LOMA BONITA, OAXACA, 2018



Universidad del Papaloapan

Terra uberrima, mens aperta
Bou lo tama, chi ji jú

Ingeniería en Acuicultura

Oficio No. JCIA/023/18

Asunto: Jurado de Examen profesional
Loma Bonita, Oaxaca, a 04 de julio de 2018

M. E. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
JEFA DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
P R E S E N T E

Por medio del presente, informo a usted la conformación del Jurado del Examen Profesional de la C. **ADRIANA TREJO QUEZADA** (número de matrícula **11040023**), egresada de la Carrera de **INGENIERÍA EN ACUICULTURA** de la Universidad del Papaloapan.

Titulares:

Dr. Nicolás Valenzuela Jiménez.- Presidente.
Dr. Juan Pablo Alcántar Vázquez.- Secretario.
M. C. Daniel Calzada Ruiz.- Vocal.

Suplentes:

M. C. Raúl Moreno de la Torre.- Primer suplente.
M. C. Carolina Antonio Estrada.- Segundo suplente.

Sin más por el momento y agradeciendo su atención a la presente, le envío un cordial saludo.

Atentamente,

Terra uberrima, mens aperta
Bou lo tama, chi ji jú

M. C. Raúl Moreno de la Torre
Jefe de la Carrera de Ingeniería
en Acuicultura



JEFATURA
INGENIERIA EN
ACUICULTURA

Vo. Bo. M. C. Héctor López Arjona
Vice-Rector Académico

c.c.p. M. C. Héctor López Arjona.- Vice-Rector Académico.
c.c.p. Dr. Juan Pablo Alcántar Vázquez.- Asesor de tesis.
c.c.p. Archivo.

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 el apoyo, la dedicación y sus enseñanzas brindadas durante el desarrollo de este proyecto.

A mis revisores,

Dr. Nicolás Valenzuela Jiménez, M.C. Daniel Calzada Ruiz, M.C. Raúl Moreno de la Torre, por su apoyo y orientación en la revisión de este proyecto.

Owen,

No hay manera en la cual te pueda pagar por la sinceridad de tu amistad y por tantas buenas acciones que has tenido conmigo. ¡Eres una persona grandiosa!

Gertrudis Murillo,

Te agradezco por tantas ayudas y tantos aportes no solo para el desarrollo de mi tesis, sino también para mi vida, esa persona que se preocupó por mí en cada momento y que siempre quiso lo mejor para mi porvenir.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

DEDICATORIA

Con todo amor y cariño, A:

Mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

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

El desarrollo de esta tesis no lo puedo catalogar como algo fácil, pero lo que sí puedo hacer, es afirmar que durante todo este tiempo pude disfrutar de cada momento, que cada investigación, proceso, y proyectos que se realizaron dentro de esta, lo disfruté mucho, y no fue porque simplemente me dispuse a que así fuera, fue porque mis amigos siempre estuvieron ahí, fue porque la vida misma me demostró que de las cosas y actos que yo realicé, serán los mismos que harán conmigo.

Siembra una buena y sincera amistad, y muy probablemente el tiempo te permitirá disfrutar de una agradable cosecha.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	v
ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- MARCO TEÓRICO	3
2.1 Producción de tilapia del Nilo	3
2.2 Biología de la tilapia	4
2.3 Técnicas para la obtención de cultivos monosexo	6
2.4 Descripción de los andrógenos	7
2.5 Masculinización	
3.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
4.-JUSTIFICACIÓN	11
5.- ANTECEDENTES	13
6.- OBJETIVOS	15
6.1. Objetivo general	15
6.2. Objetivos específicos	15
7.- MATERIALES Y METODOS	16
7.1 Ubicación del experimento	16
7.2 Alevines	16
7.3 Diseño experimental	16
7.4 Desarrollo del experimento	17
7.4.1 Alimento hormonado	17
7.4.2 Siembra	17

7.4.3 Alimentación de los alevines	18
7.4.4 Análisis de proporción de sexos	19
7.4.5 Evaluación del crecimiento	20
7.4.6 Evaluación de la tasa de conversión alimenticia	21
7.4.7 Supervivencia	21
7.4.8 Análisis estadístico	21
8. RESULTADOS	22
8.1 Periodo de alevín	22
8.2 Periodo de juvenil	22
8.3 Proporción de sexos y supervivencia final	27
9. DISCUSIÓN	28
10. CONCLUSIÓN	36
11. RECOMENDACIONES	37
12. REFERENCIAS	38

ÍNDICE DE CUADROS

Página

CUADRO 1. Resumen comparativo de trabajos de masculinización realizados en tilapias.	13
CUADRO 2. Tiempos de hormonado, replicas por tratamiento, densidad y ración inicial de alimento a emplear durante el experimento de reversión sexual en la tilapia del Nilo.	17
CUADRO 3. Biomasa ganada (BG), tasa de crecimiento diario (TCD), factor de conversión alimenticia (FCA) y factor de condición (FC) obtenidos en la tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentada a diferentes tiempos durante el periodo de alevín con el esteroide 17α -metiltestosterona.	26
CUADRO 4. Proporción de sexos y porcentaje de supervivencia final (S), en juveniles de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados a diferentes tiempos durante el periodo de alevín con el esteroide 17α -metiltestosterona.	27

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Estructura química de la testosterona.	6
FIGURA 2. Proceso de la técnica squash.	19
FIGURA 3. A.- Sc, Espermatogonias. B.- Sp, Ovogonias. Validación de la técnica de tinción de acetocarmín para el tejido testicular y ovárico, bajo histología (40 x).	20
FIGURA 4. A.-Peso húmedo, B.-Longitud total obtenida durante el periodo de alevín en la tilapia del Nilo. La presencia de superíndices con diferente letra sobre las columnas indica diferencias significativas entre tratamientos para cada biometría ($P < 0.05$).	23
FIGURA 5. A.-Peso húmedo, B.-Longitud total obtenida durante el periodo de juvenil en la tilapia del Nilo. La presencia de superíndices con diferente letra sobre las columnas indica diferencias significativas entre tratamientos para cada biometría ($P < 0.05$).	25

RESUMEN

La región del Papaloapan es una de las zonas con mayor potencial de crecimiento para el cultivo de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), ya que cuenta con las condiciones climáticas que favorecen su cultivo a niveles que muy pocas otras regiones en nuestro país pueden ofrecer. El estado de Oaxaca actualmente produce mil 200 toneladas de tilapia al año, ocupando el lugar 15 en producción a pesar de contar con grandes embalses de agua con una capacidad de producción de 82 mil toneladas anuales. Lo anterior remarca la importancia de incentivar el cultivo de la tilapia del Nilo en el estado y que este se acompañe de nuevas biotecnologías enfocadas al control del cultivo, que permitan incrementar la producción en la región, se ha convertido en los últimos años en un aspecto importante. Una alternativa para reducir el uso de hormonas, con una aplicación inmediata al cultivo comercial de la tilapia del Nilo, es la evaluación precisa de los tiempos de hormonado. El objetivo principal de esta investigación fue evaluar la proporción de machos y el crecimiento obtenido en la tilapia del Nilo alimentada con 17α -metiltestosterona a diferentes tiempos durante el periodo de alevín. Para ello se evaluaron cinco tiempos (0, 10, 15, 20 y 25 días) de administración de hormona a una población mixta (hembras y machos) de tilapia del Nilo variedad Spring. Para cada tratamiento y el grupo testigo se utilizaron tres replicas. Los alevines fueron sembrados a una densidad inicial de 0.5 alevines L^{-1} en un sistema de recirculación compuesto por 15 acuarios de 85 L de capacidad conectados a un filtro mecánico y un filtro de bio-bolas. El cultivo consistió de 30 días de cultivo en acuarios de acrílico y posteriormente 20 días en estanques exteriores de 1000 L de capacidad. Para la determinación de sexos en cada uno de los tratamientos se empleó la técnica de squash. La evaluación del crecimiento se realizó a partir del peso húmedo y longitud total obtenidas a partir de cada biometría. Los resultados obtenidos mostraron una reversión sexual al 100% desde los 10 días de aplicación del esteroide; sin embargo, los valores mas altos en lo que respecta a los índices de crecimiento se observaron en los grupos que recibieron el esteroide por un mayor periodo. El menor crecimiento se observó consistentemente en el grupo testigo. Estos resultados muestran que no es necesario administrar la hormona durante 30 días para lograr una reversión del 100% y que el esteroide suministrado tiene un efecto positivo en la tasa de crecimiento de los alevines, el cual persiste por algunas semanas después de terminado el tratamiento.

Palabras Clave: Tilapia del Nilo, 17α -metiltestosterona, masculinización, tiempo, crecimiento, supervivencia.

ABSTRACT

The Papaloapan region is one of the areas with the greater potential for the culture of Nile tilapia, since it has the climatic conditions that allow its culture at levels that very few other regions in our country can offer. The state of Oaxaca occupies the 15th place in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production despite having the presence of large water reservoirs with a production capacity of 82 thousand tons per year. The above highlights the importance of encouraging the culture of Nile tilapia in the state and that this be accompanied by new biotechnologies focused on culture control, which in turn allow increasing the production in the region, has become an important aspect in recent years. An alternative to reduce the use of hormones, with an immediate application to Nile tilapia commercial culture, is the precise evaluation of hormonal treatment duration. The main objective of this work was to evaluate the proportion of males and the growth obtained in Nile tilapia fed with 17α -methyltestosterone at different times during the fry period. For this, five times (0, 10, 15, 20 and 25 days) of application of the hormonal treatment were evaluated in a mixed population (females and males) of Nile tilapia of the Spring variety. For each treatment and control group, three replicates were used. Fry were stocked at an initial density of 0.5 L^{-1} in a recirculation system composed of 15 85 L capacity aquaria connected to a mechanical filter and a bio-ball filter. Culture consisted of 30 days in culture in acrylic aquaria and another 20 days in exterior ponds of 1000 L capacity. Squash technique was used for determination of sex in each of the treatments. The evaluation of growth was made from wet weight and total length obtained from each biometry. The results obtained showed a 100% sexual reversion from 10 days of steroid application; however, the highest values in terms of growth rates were observed in the groups that received the steroid for a longer period of time. The lowest growth was consistently observed in the control group. This results support the idea that it is not necessary that the hormonal treatment last for 30 days to achieve a 100% reversal and that the supplied steroid has a positive effect on the growth of the fry which persists for a few weeks after the end of the treatment.

Keywords: Nile tilapia, 17α -methyltestosterone, masculinization, growth, survival.

1.- INTRODUCCIÓN

El incremento de la población humana ha provocado una excesiva demanda de alimentos, resultando los océanos una fuente cada vez más importante para proveer proteína barata y de buena calidad; sin embargo, lo anterior ha disminuido las poblaciones marinas, debido principalmente a la sobreexplotación. Frente a esto nació una alternativa conocida con el nombre de acuicultura, una técnica dedicada al cultivo y crianza de diferentes especies acuáticas en ambientes controlados (Valladares y Zaragoza, 2012).

La acuicultura ha sido la desencadenante del crecimiento en el suministro de pescado para el consumo humano. Si bien la acuicultura proporcionó solo el 7% de pescado para consumo humano en 1974, este porcentaje aumentó al 26% en 1994 y al 31.1% en 2004 (FAO, 2012). La producción acuícola de pescado representó el 44.1% de la producción total a nivel mundial (incluidos los usos no alimentarios), una cifra superior al 42.1% alcanzado en 2012 (FAO, 2016).

En este sentido, de las especies que más se cultivan se encuentran las tilapias, ubicándose en el segundo lugar en cuanto a volumen de producción a nivel mundial, esto debido a las características biológicas que poseen, convirtiéndose en uno de los grupos más exitosos de peces dulceacuícolas cultivados, (FAO, 2014). En el año 2013, dentro de las especies del género *Oreochromis* (principal género del grupo de las tilapias) la de mayor producción a nivel mundial fue la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) con más 99% del volumen total (FishStatJ, 2016).

La tilapia del Nilo se ha convertido, en la más importante para la acuicultura debido a su rápido crecimiento, tolerancia a un amplio rango de temperaturas y salinidad; además de su viabilidad para cultivo tropical y en aguas salobres. Sin embargo, alcanzar la uniformidad de talla al momento de la cosecha es complicado debido a su maduración precoz, pues dirigen una gran cantidad de energía a las actividades reproductivas afectando negativamente la cantidad de

energía disponible para el crecimiento (Tran *et al.*, 2011). Para contrarrestar este efecto, se utilizan diferentes técnicas de cultivo entre las cuales destacan los cultivos de un solo sexo (monosexo) que buscan evitar y/o reducir la maduración precoz; siendo la reversión sexual con hormonas una de las técnicas más utilizadas actualmente a nivel comercial (Jiménez y Arredondo, 2000; Daza *et al.*, 2005; Vidal *et al.*, 2010; Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014).

En la producción comercial de tilapia del Nilo la reversión sexual por esteroides masculinizantes (andrógenos) ha permitido obtener poblaciones monosexo, 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, incluyendo la diferenciación gonadal; en general esta técnica produce en la tilapia del Nilo poblaciones monosexo, compuestas por machos, en un porcentaje superior al 99.8% (Daza *et al.*, 2005), lo cual representa un incremento en la rentabilidad de las granjas acuícolas debido a la rápida tasa de crecimiento de los machos en comparación con las hembras y sobre todo porque se elimina el comportamiento sexual y territorial en ambos sexos (Desprez *et al.*, 2003; Ponzoni *et al.*, 2005).

2.- MARCO TEÓRICO

2.1 Producción de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) en México.

En México entre los principales estados productores de tilapia del Nilo se encuentran: Chiapas (38 mil 313 toneladas), Jalisco (32 mil 898 toneladas), Sinaloa (16 mil 573 toneladas), Nayarit (12 mil 649 toneladas) y Michoacán (12 mil 285 toneladas); entre las cinco entidades producen el 72.2% del volumen en todo el país. Los estados que mayor incremento presentaron entre 2015 y 2016 fueron: Sonora (quien triplicó su producción), Quintana Roo, Tamaulipas, Querétaro, Durango, Sinaloa, Oaxaca y Yucatán (CONAPESCA, 2017).

En lo que respecta al estado de Oaxaca, la producción de tilapia del Nilo se ha incrementado en un 53%, al pasar de 758 a mil 328 toneladas, con un valor estimado de 26.7 millones de pesos. La mayor producción en sistemas controlados se concentra en la región del Papaloapan con una producción de 2 mil 100 toneladas anuales (CONAPESCA, 2016).

2.2 Biología de la tilapia del Nilo

Las tilapias pertenecen a la familia de los Cíclidos, presentando una serie de características distintivas, entre sus variedades destacan la tilapia del Nilo, la tilapia azul (*O. aureus*) y la tilapia de Mozambique (*O. Mossambicus*) (Arredondo y Lozano, 1996). Su distribución original fue el sur de África Central y a partir del año 1939 comenzó su distribución en otros países, de tal forma que, hoy en día, se le encuentra en casi todo el mundo; debido especialmente a su valor comercial y también a su valor social, este último, como especie destinada a una alimentación familiar y de autoconsumo, cuando se cultiva a baja densidad en estanques. Dentro del grupo de las tilapias, la evaluación de la tilapia del Nilo en diferentes regiones ha mostrado que presenta el mejor desempeño reproductivo, crecimiento y supervivencia (Macaranas *et al.*, 1997).

La principal razón de su éxito se relaciona con su rápido crecimiento en aguas tropicales, y a su facilidad de reproducción en cautiverio, ya que pueden reproducirse durante todo el año (si la temperatura es adecuada) y la producción de sus alevines puede realizarse en un amplio rango de ambientes (Cnaani y Hulata, 2008). Las crías de tilapia del Nilo alcanzan la madurez sexual a los 2-3 meses y pueden reproducirse cada 3-4 semanas, además la hembra muestra cuidado parental lo cual retrasa significativamente el tiempo necesario para alcanzar la talla comercial. Estos problemas han sido resueltos con la obtención de poblaciones monosexo y el control de los cultivos a partir de la década de los 60 (Cnaani y Hulata, 2008).

2.3 Técnicas para la obtención de cultivos monosexo

El sexo en los peces no está determinado genéticamente al 100%, factores externos como la temperatura, el comportamiento social y la extirpación quirúrgica de las gónadas en algunas especies inducen a la reversión sexual. Por lo tanto, el sexo fenotípico que no se ha diferenciado puede ser manipulado con la administración de hormonas esteroides a través de suplementos alimenticios o bien por inmersión (Botero *et al.*, 2010).

Existen diferentes técnicas utilizadas para evitar o reducir la maduración sexual precoz en la tilapia del Nilo; sin embargo, no todas son 100% efectivas o fáciles de emplear a gran escala. Como solución a la problemática de maduración precoz, existen varias estrategias que permiten controlar o evitar la reproducción de tilapia en condiciones de cultivo y con esto disminuir los problemas de sobrepoblación dentro de los estanques:

a) El sexado manual; consiste en separar a los machos y a las hembras, para ser cultivados en estanques separados. El trabajo es laborioso y consume mucho tiempo (Jiménez y Arredondo, 2000; Daza *et al.*, 2005).

b) Introducción de depredadores tales como: la carpa (*Cyprinus carpio*), la perca del Nilo (*Lates niloticus*), la lobina negra (*Micropterus salmoides*) y la tenguayaca (*Petenia splendida*) especies carnívoras que se alimentan de las crías de las tilapias contribuyendo con esto a controlar la población en los estanques (Jiménez y Arredondo, 2000).

c) Los cultivos en densidades altas o en jaulas flotantes pueden retrasar la aparición de la maduración y hacen físicamente imposible la fertilización de los huevos (Daza *et al.*, 2005).

d) Producción de híbridos mediante la cruce entre especies de tilapia obteniendo buenos resultados al producir poblaciones con altos porcentajes de machos, con lo que es posible establecer cultivos monosexos (Jiménez y Arredondo, 2000; Daza *et al.*, 2005).

e) La producción de peces estériles mediante la manipulación genética (haploides, triploides y poliploides) es una alternativa actualmente. Sin embargo, todavía se requieren más estudios para volver comerciales estas técnicas en la tilapia de Nilo (Jiménez y Arredondo, 2000; Arias-Rodríguez y Parámo-Delgadillo, 2001; Daza *et al.*, 2005).

f) Por último, la reversión sexual o masculinización a través de hormonas exógenas ha sido reconocida por muchos años como la técnica más eficiente para producir poblaciones monosexo. La aplicación de hormonas para la reversión sexual se realiza principalmente a través de las dietas comerciales proporcionadas a los alevines inmediatamente después de la eclosión, antes de la diferenciación sexual de los alevines y permite obtener hasta un 99.8% de machos (Jiménez y Arredondo, 2000; Hurtado, 2005; Daza *et al.*, 2005).

2.4 Descripción de los andrógenos

Las hormonas sexuales son los andrógenos y los estrógenos. Los andrógenos son las hormonas sexuales de los machos y la testosterona, la androsterona y la androstendiona. Son hormonas

esteroideas derivadas del ciclo pentanoperhidrofenantreno, cuya función principal es estimular el desarrollo de los caracteres sexuales primarios y secundarios en los machos, así como también en las hembras; el comportamiento reproductor; la maduración de los gametos en los machos, así como estimular el crecimiento somático (Marcillo y Landívar, 2000).

La testosterona está compuesta por 19 átomos de carbono y dos grupos metilo en las posiciones C18 y C19, un doble enlace entre C4 y C5 y un grupo hidroxilo en C17 (Figura 1). Entre sus derivados sintéticos más utilizados se encuentran la fluoximesterona y la 17α -metiltestosterona los cuales se caracterizan por conservar su acción androgénica al ingerirse por vía oral (Amado y Flórez, 2015).

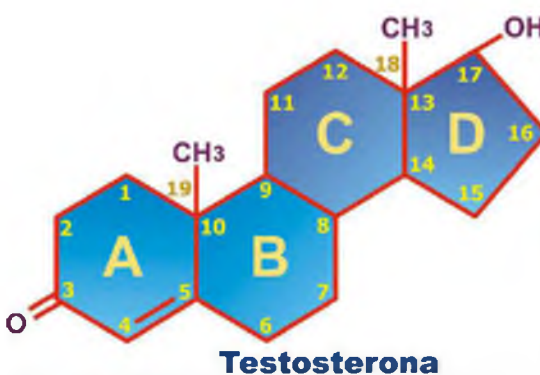


Figura 1. Estructura química de la testosterona (Lopategui, 2012)

De acuerdo a Marcillo y Landívar (2000), la hormona 17α -metiltestosterona es el andrógeno más utilizado a escala comercial en los procesos de reversión química del sexo para la producción de alevines monosexo de tilapia del Nilo, debido a la ventaja que presenta este fármaco, por su inmediata disolución de sus cristales en alcohol.

Adicionalmente, Jiménez y Arredondo (2000) reportan que la preferencia en el uso de la hormona 17α -metiltestosterona se basa, además del hecho de que con esta hormona se obtienen resultados de hasta 100% de masculinización, en que tiene una residualidad de solo el 1%

aproximadamente 3 semanas después del tratamiento, por lo que no representa a un riesgo para el consumo humano. En el engorde a tamaño comercial, alevines, juveniles y adultos, el pez continúa eliminando el remanente de 1% de la hormona.

2.5 Masculinización

El método de reversión sexual más empleado en la tilapia del Nilo actualmente es la inclusión de andrógenos al alimento balanceado suministrado durante el periodo de alevín. Para esto se pueden utilizar la flouximesterona, la 17 α -metilttestosterona y la 17 α -methyldihydrotestosterona (MDHT; 17 β -hydroxy-17- methyl-5 α -andro-stan-3- uno) (Amado y Flórez, 2015).

La masculinización es efectiva cuando los andrógenos se suministran utilizan a alevines con un peso promedio de 0.01 g y una longitud total menor a 10 mm (Vera-Cruz *et al.*, 1996; Enríquez *et al.*, 2004), ya que en los mayores de 12 mm de longitud total, su tejido gonadal ha empezado a diferenciarse. Estudios realizados a este respecto han encontrado que alevines de 11 mm de longitud total, presentan una eficiencia de reversión menor al (96%), notando que la efectividad del suministro de la hormona disminuye conforme se incrementan la edad y la talla (Guerrero y Shelton, 1974; Enríquez *et al.*, 2004).

Guerrero y Shelton (1974) indican que la metodología para una masculinización exitosa es la siguiente:

- Los alevines deben ser menores que 11 mm de longitud.
- Dosis 60 mg de hormona 17 α -metilttestosterona por kilogramo de alimento balanceado.
- Este tratamiento debe ser 21 a 28 días según la especie y la densidad de cultivo.
- La temperatura debe mantenerse constante durante el tratamiento, preferiblemente a 28 °C.
- Los alevines deben ser alimentados *ad libitum* con alimento de buena calidad.

En cuanto a la edad, Wang y Tsai (2000) mencionan que la masculinización debe iniciarse antes de los 10 días de edad, ya que alrededor de este tiempo las gónadas comienzan a diferenciarse sexualmente en machos o hembras. Lo anterior pone en evidencia que la duración de los tratamientos de masculinización actualmente utilizados pueden sobreestimar a la duración necesaria para inducir un 100% de masculinización, provocando un mayor gasto de hormona, y de horas-hombre (ya que al masculinizar debe alimentarse cada hora), así como un mayor impacto a los cuerpos de agua a través de los efluentes liberados por las granjas.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tilapia del Nilo es una especie muy prolífica (desoves múltiples) lo cual resulta ventajoso porque podemos producir alevines en cantidades comerciales durante todo el año; sin embargo, una desventaja es que madura antes de la talla comercial por lo cual destina mucha energía en productos y conductas sexuales, y no en el crecimiento somático, además la hembra incuba los huevos ya fertilizados en la boca y durante ese tiempo no come (5 a 10 días), por lo cual presenta un menor rendimiento en el cultivo en comparación con machos.

La maduración precoz de la tilapia del Nilo provoca, además de un descenso en el crecimiento, una sobrepoblación dentro del estanque que ocasiona una disminución en los parámetros de la calidad del agua menor oxígeno disuelto, mayor liberación de amonio y heces, competencia por el alimento, tallas heterogéneas, así como un mayor estrés que puede provocar la aparición de enfermedades. Por estas razones la masculinización es recomendable en el cultivo comercial de este animal.

Actualmente la masculinización a través de hormonas exógenas es reconocida como la técnica más eficiente para producir poblaciones monosexo dentro del cultivo comercial de la tilapia del Nilo. La técnica consiste en revertir el sexo mediante la aplicación de hormonas a través de las dietas comerciales proporcionadas a los alevines inmediatamente después de la eclosión. La hormona más efectiva para masculinizar es la 17α -metiltestosterona, la cual ha permitido optimizar los rendimientos obtenidos a nivel comercial, pero también se ha generado una creciente preocupación dentro del mercado y grupos ambientalistas por su uso en grandes volúmenes para obtener poblaciones monosexo. La acumulación de hormonas en los cuerpos de agua cercanos a las granjas (ríos, lagos, zonas costeras), así como un creciente número de personas que no desean consumir productos que han sido tratados con hormonas, han convertido

a la masculinización en una técnica cada vez más controvertida.

Lo anterior ha llevado a la búsqueda de técnicas para la optimización de los protocolos actualmente utilizados con base en el mayor conocimiento del proceso de diferenciación sexual de la tilapia del Nilo y que en el corto plazo permita reducir el uso de hormonas en el cultivo comercial de la tilapia del Nilo y por lo tanto asegurar un producto más amigable con el medio ambiente.

4. JUSTIFICACIÓN

La región del Papaloapan es una de las zonas con mayor potencial de crecimiento para el cultivo de la tilapia del Nilo, ya que cuenta con las condiciones climáticas que favorecen su cultivo. Sin embargo, actualmente la región cuenta con una producción anual que no supera las 2 mil 100 toneladas y el estado de Oaxaca ocupa el lugar 15 en producción a pesar de contar con la presencia de grandes embalses de agua con una capacidad de producción de 82 mil toneladas anuales (SAGARPA, 2016).

Lo anterior deja en claro la necesidad de incentivar el cultivo de la tilapia del Nilo en el estado y que este se acompañe de nuevas biotecnologías enfocadas al control del cultivo, que permitan incrementar la producción en la región, así como volver el cultivo más sustentable.

A este respecto, la sustentabilidad del cultivo de tilapia del Nilo se ha convertido en los últimos años en un aspecto importante, ya que el uso de grandes volúmenes de hormonas para masculinizar y obtener poblaciones monosexo ha provocado que se genere en grupos ambientalistas una preocupación por la acumulación de hormonas en los cuerpos de agua, como ríos y lagos.

Esto ha impulsado que el desarrollo y aplicación de nuevas técnicas que requieran un reducido uso de hormonas haya cobrado fuerzas en últimos años, ocupando actualmente un espacio importante como una alternativa más rentable a nivel comercial.

Una necesidad para reducir la cantidad de hormonas, con una aplicación inmediata al cultivo comercial de la tilapia del Nilo, es la evaluación precisa de los periodos de hormonado. Actualmente, gracias a la investigación realizada se sabe que la diferenciación gonadal en la tilapia del Nilo se presenta alrededor de los 10 días de edad, por lo cual es factible reducir los

tiempos de los tratamientos hormonales actualmente utilizados, los cuales hormonan de 28 a 30 días para obtener porcentajes de reversión del 100%.

Una reducción en el tiempo de tratamiento hormonal representa grandes ventajas al medio ambiente, mejorar la percepción de los consumidores y reducir los costos de producción de las granjas productoras de alevín. Debido a lo anterior, es importante analizar a detalle los porcentajes de machos obtenidos a diferentes tiempos de tratamiento hormonal, así como el efecto de las hormonas administradas sobre varios parámetros del crecimiento, la conversión alimenticia y la supervivencia al periodo juvenil de los alevines hormonados.

5.- ANTECEDENTES

Los primeros trabajos de reversión sexual en peces tuvieron lugar en la década de 1930 (Yamamoto, 1953), mientras que los primeros intentos de producir tilapias de un solo sexo fueron hechos por Hickling (1960), por medio de la hibridación; desde ese momento, los mayores aportes hechos sobre reversión sexual en tilapias fueron realizados por Guerrero (1975) y Shelton (1981), generaron técnicas especiales de preparación de alimento con hormonas y de inspección de gónadas para observar los resultados de la inversión. A partir de estos estudios se deriva el gran número de estudios realizados al momento. En el cuadro 1 se presenta un resumen comparativo de los trabajos de masculinización realizados en tilapias.

Cuadro 1. Resumen comparativo de trabajos de masculinización realizados en tilapias.

Trabajo	Especie	Esteroide (mg)	Tiempo (días)	Resultado (%)
Nakamura y Takahashi 1973	<i>T. mossambica</i>	MT 50 – 100	19-40	100
Guerrero 1975	<i>T. aurea</i>	MT 15-30-60	21	85-96-100
Shelton 1981	<i>T. aurea</i>	MT 60	16-19-21-28	83-93-98-97
Von-Hessberg <i>et al.</i> 1983	<i>T. Mossambica</i>	MT 60	21	100
Pérez 2002	<i>O. niloticus</i>	MT 60	30	97
Arboleda y Duvan 2005	<i>O. mosambicus</i>	MT 60	30	90
Delgadillo 2006	<i>O. niloticus</i>	MT 60	28	100
López 2007	<i>O. niloticus</i>	F 5	35	95
Rincón-Villafuerte 2008	<i>Niloticus Stirling</i>	MT 20	14-21-28	100
Torres-Hernández <i>et al.</i> 2010	<i>O. niloticus</i>	F y T 2.5	30	93 -69
Castillo-Montecinos 2012	<i>O. mossambicus</i>	MT 60	30	100
Almeida 2014	<i>O. niloticus</i>	MP – TA 60	30	98.7 – 59.3
Pachacama y Miguel 2015	<i>Oreochromis spp</i>	MT 60 -80-100	30	96-99-100
Ordóñez 2017	<i>O. niloticus</i>	MT 0.5 - 1.0 - 1.5 - 2.0 - 2.5	10-12-14	47 - 59- 64 - 65 – 66

MT= 17 alfa metiltestosterona, MP= Mesterolona Proviron, TA= Testosterona andriol, F= Fluoximesterona, T= Testosterona enantato. Concentración (Mg/Kg de alimento)

La reversión sexual ha sido alcanzada gracias al conocimiento preciso de los esteroides sexuales tanto andrógenos, como estrógenos, así como de los mecanismos de determinación sexual (gonocorismo y hermafroditismo) de las especies que han servido como objeto de experimentación. En años recientes, la investigación para obtener poblaciones monosexo ha estado enfocada a buscar nuevos métodos que permitan obtener el mayor porcentaje de organismos revertidos con características aptas para incorporarlos a sistemas acuícolas (Flynn y Benfy, 2007).

6.- OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Evaluar la proporción de machos y el crecimiento obtenido en la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada con 60 mg 17 α -metiltestosterona durante diferentes periodos (0, 10, 15, 20 y 25 días) en la etapa de alevín.

6.2. Objetivos específicos

- 1.- Evaluar la proporción de machos en la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada a diferentes periodos con 17 α -metiltestosterona durante la etapa de alevín.
- 2.- Evaluar el crecimiento obtenido al estadio juvenil de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada a diferentes periodos con 17 α -metiltestosterona durante la etapa de alevín.
- 3.- Evaluar el factor de conversión alimenticia obtenido en la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada a diferentes periodos con 17 α -metiltestosterona durante la etapa de alevín.
- 4.- Evaluar la supervivencia obtenida en juveniles de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados a diferentes periodos con 17 α -metiltestosterona durante la etapa de alevín.

7.- MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Ubicación del experimento

El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio acuícola y de la Unidad Experimental de Producción Acuícola (UEPA) ambos pertenecientes a la Universidad del Papaloapan (UNPA) campus Loma Bonita, Oaxaca, localizado en las coordenadas 18°06' latitud norte y 95°53' longitud oeste, a una altura de 30msnm (FAM, 2014).

7.2 Alevines

Los alevines de tilapia del Nilo variedad Spring recién eclosionados utilizados durante el tratamiento hormonal fueron adquiridos del laboratorio de producción Tilapia del Papaloapan (TILPAN), ubicado en San Rafael, Tuxtepec, Oaxaca. Los alevines se trasladaron al laboratorio Acuícola de la UNPA en una bolsa de plástico transparente con oxigenación. A su llegada al laboratorio se les aplicó un tratamiento con sal (> 35 ups) durante 10 min para evitar la introducción de parásitos externos al sistema. De igual forma, se evitaron cambios bruscos de temperatura ($> 1^{\circ}\text{C}$).

7.3 Diseño experimental

Se evaluaron cinco tiempos de aplicación (10, 15, 20 y 25 días) del alimento hormonado más un testigo (0), una población mixta (hembras y machos) de tilapia del Nilo variedad Spring. Se utilizaron tres replicas por tratamiento distribuidas de manera aleatoria (Cuadro 2) dentro del sistema experimental. Para el experimento se empleó un sistema de recirculación compuesto por 15 acuarios de acrílico con una capacidad de 85 L cada uno, con dos filtros, uno mecánico y un bio-filtro compuesto por bio-bolas. El experimento consistió de 30 días de cultivo en acuarios y otros 20 días de cultivo en estanques exteriores de 1000 L de capacidad.

Cuadro 2. Diseño experimental: Tiempos de hormonado, replicas por tratamiento, densidad de siembra y ración inicial de alimento utilizados durante el experimento de reversión sexual en la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Duración (días)	Replicas por tratamiento	Densidad de siembra (A L ⁻¹)	Ración inicial de alimento
0	H0 _a , H0 _b , H0 _c		
10	H10 _a , H10 _b , H10 _c		10% de su biomasa
15	H15 _a , H15 _b , H15 _c	0.5	60 mg
20	H20 _a , H20 _b , H20 _c		17 α -metiltestosterona
25	H25 _a , H25 _b , H25 _c		

7.4 Desarrollo del experimento

7.4.1 Alimento hormonado

Para realizar la masculinización se utilizó alimento hormonado comercial tipo harina El Pedregal Silver Cup (52% proteína, 60 mg 17 α -metiltestosterona). Este alimento microparticulado tiene un tamaño menor a 600 micras y cada una de sus microparticulas contiene todos los ingredientes que conforman la dieta, además se caracteriza por contar con la semiflotabilidad, dispersión y estabilidad en el agua (El pedregal S.A. de C.V.) adecuadas para alevines de tilapia del Nilo. Para el grupo testigo se utilizó alimento Purina Agribrands (53% proteína).

7.4.2 Siembra

Después del baño de sal en agua a concentración hipersalina (mayor que 30 ups), los alevines fueron sembrados a una densidad aproximada de 0.5 alevines L⁻¹ en un sistema de recirculación cerrado compuesto por 15 acuarios de 85 L de capacidad conectados a un filtro mecánico y un filtro de bio-bolas. Cada tratamiento estuvo compuesto por tres réplicas distribuidas al azar. Se estableció un fotoperiodo de 12L: 12O. Una vez sembrados los alevines se registró la temperatura del agua tres veces al día utilizando un termómetro analógico (± 2 °C, marca Taylor[®]) para determinar la temperatura promedio diaria, con el fin de mantenerla en un rango de 26-27 °C.

7.4.3 Alimentación de los alevines

Los alevines de los tratamientos: 10, 15, 20 y 25 fueron alimentados inicialmente con 0.15 g de alimento hormonado (El pedregal®) y el tratamiento testigo con 0.15 g de alimento sin hormona (Purina® 53%, Agribrands México) cada dos horas (8:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00 y 18:00). A partir de la segunda biometría (día 11), se hizo un ajuste con base en la biomasa obtenida y se proporcionó una ración de aproximadamente el 10% de la biomasa total por réplica repartida en seis dosis diarias. El flujo de aire dentro de los acuarios se cerró 10 min antes de alimentar a los alevines y durante 15 minutos, para facilitar el consumo de alimento. Se realizaron sifoneos y recambios de agua constantes con el fin de extraer los residuos del alimento no ingerido, las heces y los alevines muertos. Lo anterior se realizó para prevenir posibles infecciones ante la proliferación de carga bacteriana y/o deterioro del agua. Se evaluó la concentración de amonio una vez por semana.

Para realizar las biometrías se colectó una muestra al azar de aproximadamente el 25% de los peces (12) por réplica de cada tratamiento, se tomó una imagen digital y para obtener la longitud total usando el software ImageJ® (versión 1.36). Para el registro del peso húmedo individual se utilizó una balanza digital (Ohaus® ± 0.01). Las biometrías se realizaron aproximadamente cada 10 días a partir del día de la siembra (alevines de 5 días de edad aproximadamente) hasta terminar el experimento (50 días de edad). Al finalizar el periodo de alevín (30 días) se procedió a realizar el cambio de alimento. A ambos grupos se les suministro por el resto del experimento alimento tipo migaja (53% proteína, Purina Agribrands).

7.4.4 Análisis de proporción de sexos

Para la determinación de sexos en cada uno de los tratamientos se empleó la técnica de squash propuesta por Guerrero y Shelton (1974), la cual consiste en extraer la gónada del juvenil para hacer una fijación en un porta-objetos en el cual se coloca la gónada, se le agregan un par de gotas de acetocarmin (HYCEL[®]) (Figura 2), para posteriormente macerar con ayuda de un cubre-objetos de tal modo que la gónada se rompa permitiendo observar su estructura interna (Figura 3).



Figura 2. Proceso de la técnica squash.

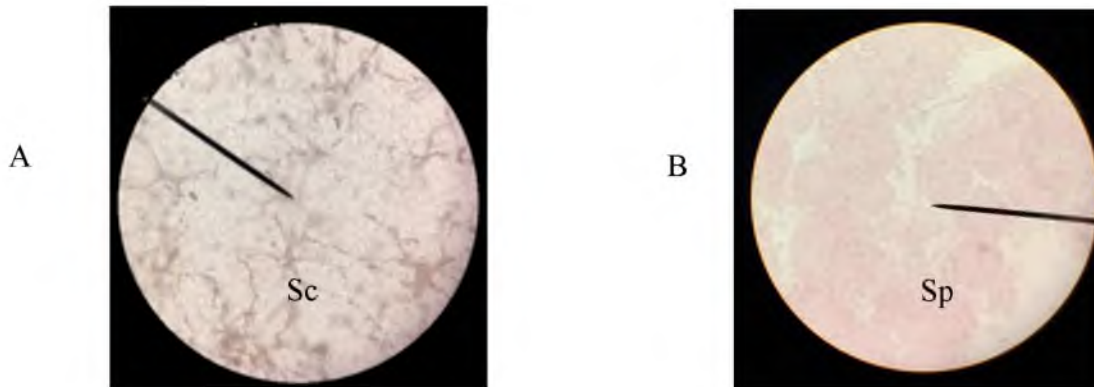


Figura 3. A.- Sc, espermatogonias. B.- Sp, Ovogonias. Validación de la técnica de tinción de acetocarmín para el tejido testicular y ovárico (40 x).

7.4.5 Evaluación del crecimiento

La evaluación del crecimiento se realizó a partir del peso húmedo y longitud total obtenidas a partir de cada biometría. Los índices obtenidos en el presente experimento fueron:

1.- Biomasa ganada en (g):

$$BG = \text{peso final} - \text{peso inicial.}$$

2.- Tasa de crecimiento diario:

$$TCD = [(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{día de experimento}]$$

3.- Factor de condición:

$$FC = (\text{peso húmedo (g)} / \text{longitud total (cm)}^3) \times 100$$

7.4.6 Evaluación de la tasa de conversión alimenticia

El factor de conversión alimenticia (FCA) se obtuvo a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{FCA} = \text{alimento suministrado} / \text{ganancia de peso húmedo.}$$

7.4.7 Supervivencia

El porcentaje de supervivencia (S) se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$S = (\text{peces cosechados} \times 100) / \text{peces sembrados.}$$

7.4.8 Análisis estadísticos

Se verificaron los supuestos de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homocedasticidad (Levene) para el uso de pruebas de estadística paramétrica. Las diferencias en peso húmedo, longitud total, así como los índices obtenidos (BG, TCE, FCA, FC) se evaluaron mediante un análisis de varianza de una vía. Las posibles diferencias entre los tratamientos se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95%. La proporción de machos identificados en cada tratamiento se compararon contra la proporción de machos (1 macho: 1 hembra) esperada en desoves normales mediante una prueba de chi-cuadrada a un nivel de significancia de 0.01% ($P < 0.001$). El porcentaje de supervivencia final entre tratamientos se convirtió mediante la función arco-seno y se comparó mediante un análisis de varianza de una vía. Todos los análisis se realizaron con el programa STATISTICA V. 8. (2007).

8. RESULTADOS

8.1 Periodo de alevín

Los resultados obtenidos para el peso húmedo y la longitud total durante el periodo de alevín se encuentran en la figura 4 (A.- peso húmedo, B.-longitud total). Todos los grupos iniciaron con alevines del mismo peso y longitud. Se observaron diferencias significativas en el peso húmedo a partir del día 20, con los grupos H20 y H25, arrojando los valores significativamente más altos ($P < 0.05$) en comparación con los grupos H10 y H0. Para el día 30 el grupo H25 registró los valores significativamente más altos ($P < 0.05$) en comparación con los valores observados en los grupos H15 y H0. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los grupos H10 y H20. Por último, tanto a los 20 como a los 30 días el grupo H0 mostró los valores de peso húmedo significativamente más bajos ($P < 0.05$) en comparación con los grupos expuestos al esteroide (Figura 4 A.- peso húmedo).

Con respecto a la longitud total, no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en los primeros 10 días de cultivo. Para el día 20 se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los grupos H20 y H25 con respecto a los grupos H10 y H0, registrando los primeros los valores de longitud total más elevados. Al día 30 se registraron los valores de longitud total significativamente más elevados ($P < 0.05$) en el grupo H25 en comparación con los grupos H0 y H15. Al igual que para el peso húmedo, el grupo H0 registró los valores significativamente más bajos de longitud total ($P < 0.05$) a los 20 y 30 días, (Figura 4 B.- Longitud total).

8.2 Periodo juvenil

Los resultados obtenidos para el peso húmedo y longitud total durante el periodo juvenil se encuentran contenidos en la Figura 5 (A.- Peso húmedo, B.- Longitud total). El incremento en peso húmedo registró diferencias significativas ($P < 0.05$) a los 40 y 50 días, con el grupo H25

registrando los valores más elevados en comparación con el grupo H0, H10 y H15. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre el grupo H25 y el grupo H20 Figura 5 (A.- Peso húmedo).

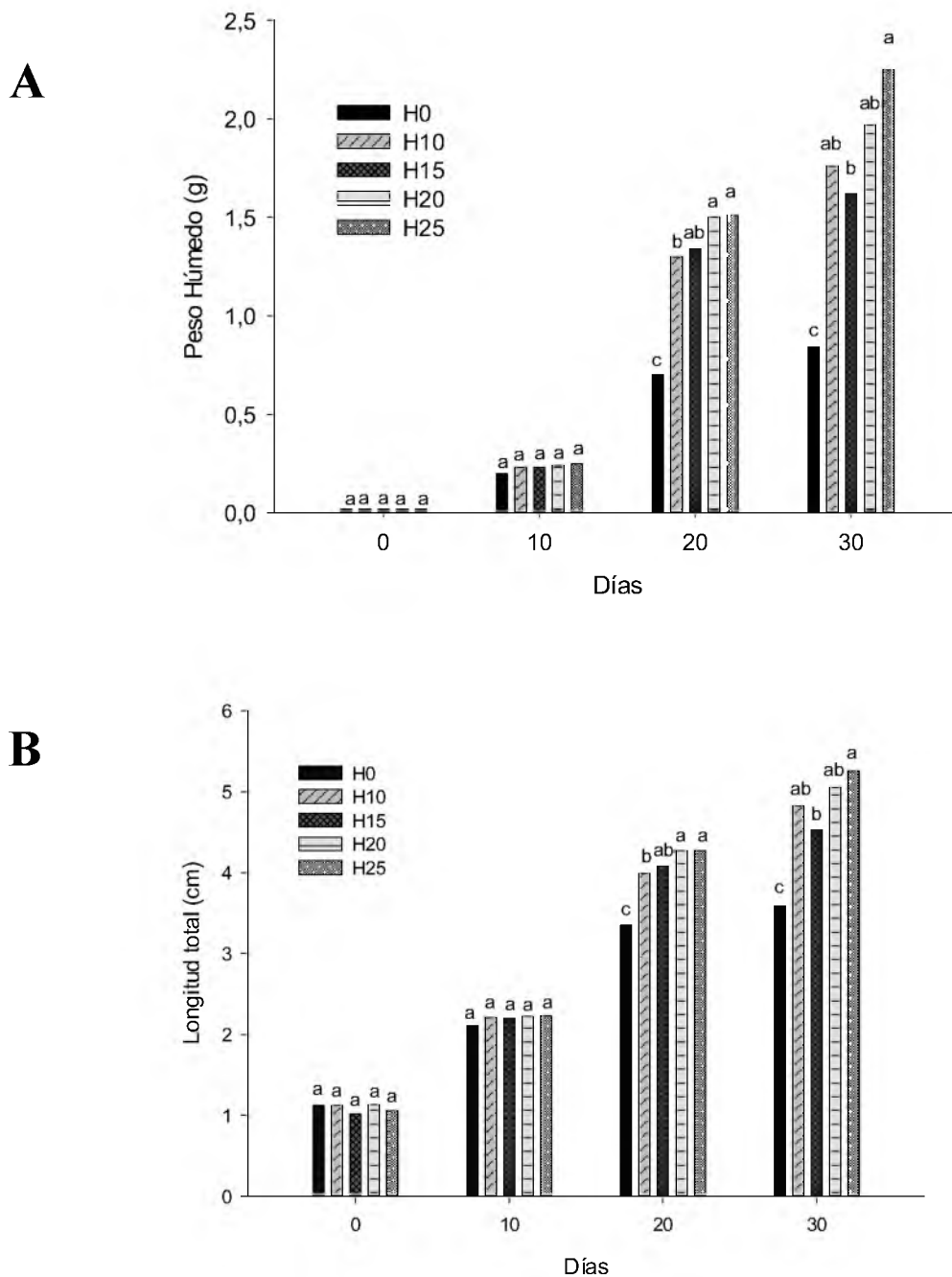


Figura 4. A.- Peso húmedo, B.- Longitud total obtenida durante el periodo de alevín en la tilapia del Nilo. La presencia de superíndices con diferente letra sobre las columnas indica diferencias significativas entre tratamientos para cada biometría ($P < 0.05$).

La longitud total, al igual que el peso húmedo, registró diferencias significativas ($P < 0.05$) a los 40 y 50 días. En este caso, los valores más bajos de longitud total se observaron de forma consistente durante el periodo en el grupo H0 en comparación con los grupos alimentados con el esteroide. Entre los grupos masculinizados, a los 40 días el grupo H25 registró los valores significativamente ($P < 0.05$) más elevados en comparación con grupos H10 y H15, mientras que para a los 50 días no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los grupos alimentados con el esteroide (Figura 5 B.- Longitud total).

Los resultados obtenidos para los índices de crecimiento se encuentran contenidos en el Cuadro 3. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre grupos para ninguno de los 4 índices analizados a los 10 días. Los resultados obtenidos para BG y TCD registraron diferencias significativas ($P < 0.05$) a los 20 y 30 días, con el grupo H0 mostrando los valores el más bajos en comparación con los grupos tratados con el esteroide. Dentro de los grupos tratados no se registraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en ninguno de los grupos a los 20 días, mientras que a los 30 días el grupo H25 mostró los valores significativamente más altos en comparación con el resto de los grupos tratados. En lo que respecta al FCA, el grupo H0 registró los valores significativamente ($P < 0.05$) más elevados a los 20 y 30 días en comparación con los grupos tratados con el esteroide. Entre los grupos tratados, no se registraron diferencias significativas a los 20 días, mientras que a los 30 días el grupo H25 registró un valor significativamente ($P < 0.05$) más bajo en comparación con los grupos H10 y H20. Por último, el FC no mostró diferencias significativas a los 20 días entre el grupo H0 y los grupos tratados con el esteroide, sin embargo, a los 30 días el valor observado en el grupo H0 fue significativamente ($P < 0.05$) más alto en comparación con los grupos alimentados con el esteroide. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ninguno de los grupos alimentados con el esteroide a 20 o 30 días (Cuadro 3).

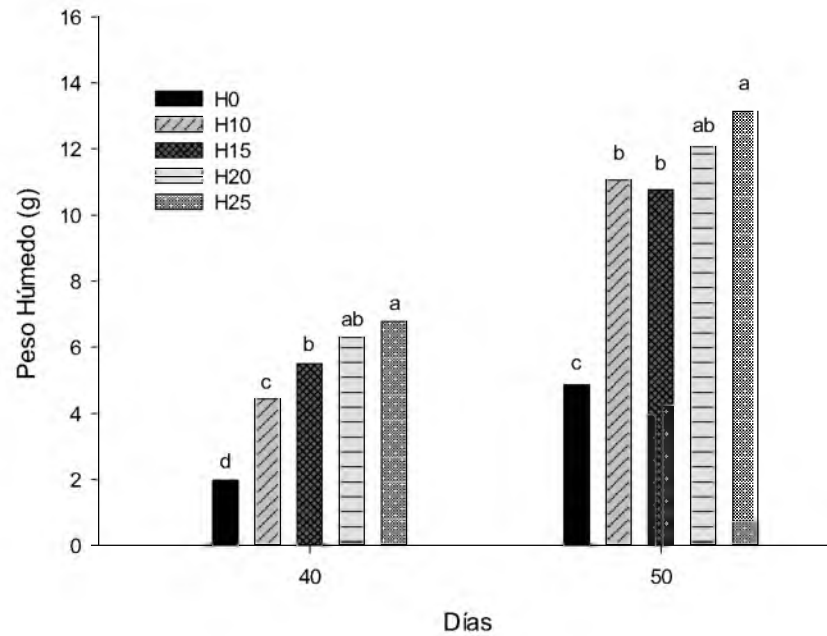
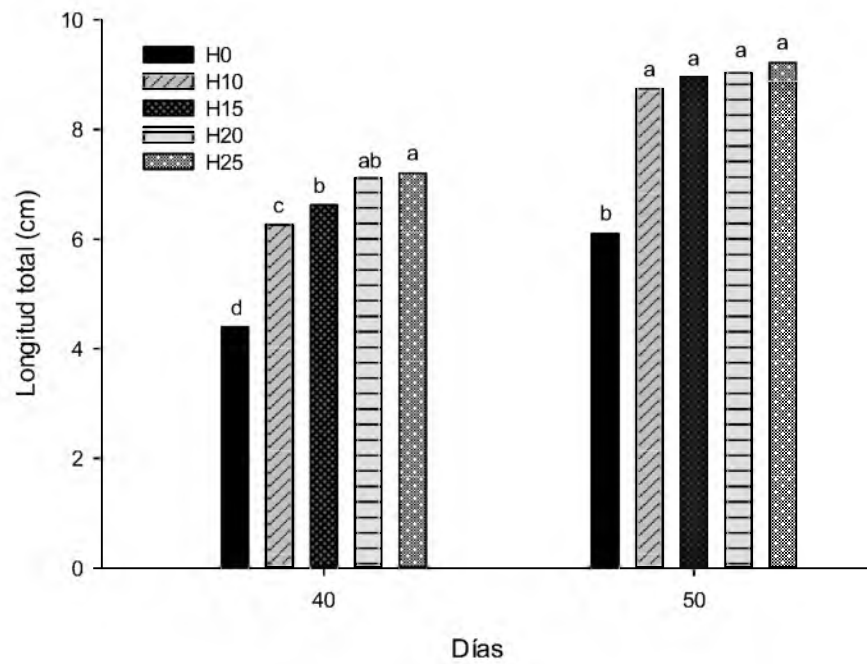
A**B**

Figura 5. A.-Peso húmedo, B.-Longitud total obtenida durante el periodo de juvenil en la tilapia del Nilo. La presencia de superíndices con diferente letra sobre las columnas indica diferencias significativas entre tratamientos para cada biometría ($P < 0.05$).

Cuadro 3. Biomasa ganada (BG), tasa de crecimiento diario (TCD), factor de conversión alimenticia (FCA) y factor de condición (FC) obtenidos en la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada durante diferentes tiempos con con el esteroide 17 α -metiltestosterona durante el periodo de alevín. Promedio \pm error estándar.

Índice	TRATAMIENTOS				
	H0	H10	H15	H20	H25
Día 10					
BG	7.90 \pm 0.55 ^a	10.35 \pm 0.90 ^a	9.88 \pm 1.13 ^a	10.82 \pm 0.16 ^a	10.75 \pm 0.46 ^a
TCD	0.008 \pm 0.001 ^a	0.009 \pm 0.001 ^a	0.009 \pm 0.001 ^a	0.009 \pm 0.001 ^a	0.009 \pm 0.001 ^a
FCA	1.06 \pm 0.03 ^a	1.05 \pm 0.02 ^a	1.05 \pm 0.02 ^a	1.02 \pm 0.03 ^a	1.04 \pm 0.02 ^a
FC	2.29 \pm 0.17 ^a	2.21 \pm 0.15 ^a	2.2 \pm 0.17 ^a	2.37 \pm 0.19 ^a	2.46 \pm 0.23 ^a
Día 20					
BG	21.84 \pm 1.77 ^b	51.54 \pm 1.46 ^a	49.69 \pm 3.26 ^a	57.25 \pm 2.92 ^a	58.15 \pm 7.33 ^a
TCD	0.020 \pm 0.001 ^b	0.043 \pm 0.002 ^a	0.046 \pm 0.002 ^a	0.050 \pm 0.002 ^a	0.051 \pm 0.003 ^a
FCA	1.42 \pm 0.04 ^a	1.20 \pm 0.01 ^b	1.21 \pm 0.03 ^b	1.19 \pm 0.01 ^b	1.20 \pm 0.04 ^b
FC	2.01 \pm 0.19 ^a	2.12 \pm 0.12 ^a	2.1 \pm 0.14 ^a	2.03 \pm 0.13 ^a	2.07 \pm 0.17 ^a
Día 30					
BG	31.11 \pm 4.91 ^c	79.46 \pm 6.51 ^b	88.77 \pm 4.02 ^b	102.92 \pm 6.97 ^b	151.34 \pm 5.76 ^a
TCD	0.028 \pm 0.004 ^c	0.071 \pm 0.005 ^b	0.080 \pm 0.006 ^b	0.092 \pm 0.006 ^b	0.135 \pm 0.010 ^a
FCA	1.91 \pm 0.13 ^a	1.61 \pm 0.09 ^{ab}	1.44 \pm 0.03 ^{bc}	1.45 \pm 0.05 ^b	1.23 \pm 0.06 ^c
FC	2.63 \pm 0.25 ^a	1.93 \pm 0.14 ^b	1.96 \pm 0.15 ^b	1.81 \pm 0.07 ^b	1.96 \pm 0.15 ^b
Día 40					
BG	12.24 \pm 4.93 ^b	43.79 \pm 11.79 ^{ab}	65.61 \pm 19.16 ^{ab}	84.2 \pm 7.86 ^a	60.42 \pm 15.38 ^{ab}
TCD	0.023 \pm 0.007 ^b	0.055 \pm 0.012 ^{ab}	0.086 \pm 0.014 ^a	0.100 \pm 0.011 ^a	0.076 \pm 0.013 ^a
FCA	3.38 \pm 1.53 ^a	2.36 \pm 0.55 ^a	1.97 \pm 0.48 ^a	1.62 \pm 0.05 ^a	2.53 \pm 0.56 ^a
FC	2.76 \pm 0.39 ^a	1.95 \pm 0.16 ^{ab}	2.06 \pm 0.16 ^{ab}	1.84 \pm 0.12 ^b	1.91 \pm 0.14 ^{ab}
Día 50					
BG	60.94 \pm 11.79 ^b	212.96 \pm 37.63 ^a	166.81 \pm 17.79 ^{ab}	194.74 \pm 29.41 ^a	200.87 \pm 34.27 ^a
TCD	0.116 \pm 0.016 ^b	0.265 \pm 0.021 ^a	0.210 \pm 0.02 ^a	0.230 \pm 0.019 ^a	0.254 \pm 0.023 ^a
FCA	1.35 \pm 0.08 ^a	1.39 \pm 0.15 ^a	1.65 \pm 0.09 ^a	1.72 \pm 0.20 ^a	1.71 \pm 0.18 ^a
FC	2.58 \pm 0.33 ^a	1.76 \pm 0.14 ^b	1.56 \pm 0.10 ^b	1.78 \pm 0.16 ^b	1.72 \pm 0.09 ^b

H0 = control, H10 = alimentado 10 días con el esteroide, H15 = alimentado 15 días con el esteroide, H20 = alimentado 20 días con el esteroide, H25 = Alimentado 25 días con el esteroide. Valores marcados con superíndices con distinta letra dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

A los 40 días, el grupo H0 mostró un valor de BG significativamente ($P < 0.05$) más bajo en comparación con el observado en el grupo H20, mientras que para el final del experimento (50 días), fue significativamente ($P < 0.05$) más bajo en comparación a los grupos H20 y H25. Al igual que la BG, la TCD mostró valores significativamente ($P < 0.05$) más bajos para el grupo H0, tanto a 40 como a 50 días, en comparación con los grupos alimentados con el esteroide. Entre los grupos tratados no se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la TCD en los últimos dos muestreos.

En lo que respecta al FCA no se observaron diferencias significativas entre ninguno de los grupos analizados a 40 o 50 días. Por último, el valor de FC observado para el grupo H0 fue significativamente ($P < 0.05$) más alto a los 40 días para el grupo H0 en comparación con el grupo H20, mientras que para el final del experimento, el FC del grupo H0 mostró un valor significativamente ($P < 0.05$) más alto en comparación con los grupos alimentados con el esteroide. No se registraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los grupos tratados al final del experimento (Cuadro 3).

8.3 Proporción de sexos y supervivencia final.

Los resultados obtenidos de la proporción de sexos y supervivencia final se presentan en el Cuadro 4. Se observó una proporción de machos significativamente ($P < 0.001$) más alta en todos los grupos que recibieron el esteroide, en comparación con la proporción de machos esperada para un desove de tilapia del Nilo sin masculinizar (50% de machos). En lo que respecta a la supervivencia final, se obtuvo un valor significativamente ($P < 0.05$) más alto para el grupo H20 en comparación con el grupo control. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los grupos alimentados con el esteroide.

Cuadro 4. Proporción de sexos y porcentaje de supervivencia final (SF), en juveniles de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada durante diferentes tiempos con con el esteroide 17α -metiltestosterona durante el periodo de alevín. Promedio \pm error estándar. $n = 3$.

Tratamiento	NPA*	Proporción de sexos (%)		SF (%)
		Machos	Hembras	
H0	30	60	40	81.1 ± 4.20^b
H10	30	100 ¹	0	93.3 ± 1.28^{ab}
H15	30	100 ¹	0	93.2 ± 3.94^{ab}
H20	30	97 ¹	3	97.7 ± 2.27^a
H25	30	100 ¹	0	92.6 ± 4.12^{ab}

*NPA = número de peces analizados.¹Significativamente diferente ($P < 0.001$) de la proporción de machos esperada. Valores marcados con superíndices con distinta letra dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

9. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se utilizaron alevines recién eclosionados, los cuales tenían una edad de aproximadamente cinco días, lo cual garantiza que la aplicación de la hormona alcance un nivel óptimo en la sangre antes de llegar a los 10 días de edad. De igual forma, Vera-Cruz *et al.* (1996) recomienda que los alevines deben de tener un tamaño menor a 10 mm antes de iniciar el proceso de reversión hormonal para asegurar porcentajes cercanos al 100%, mientras que Melard (1995) sugiere alimentar a los alevines a lo largo de un periodo de 12 horas para mejorar la asimilación del esteroide provisto. En el caso de la tilapia del Nilo y sus híbridos, Hiott y Phelps (1993) y Jiménez *et al.* (1998) evaluaron aspectos relacionados con la talla de inicio y el éxito en la reversión sexual, llegando en ambos trabajos a la conclusión que la talla óptima para asegurar un porcentaje cercano al 100% de masculinización es menor a los 11 mm. En nuestro caso, los alevines utilizados presentaron una talla inicial de 10 mm y se alimentaron 6 veces al día a lo largo de 12 horas, garantizando que se cumplieran los requisitos necesarios para una reversión sexual exitosa. Es probable que el diseño experimental utilizado haya contribuido a los elevados porcentajes de masculinización obtenidos en todos los tratamientos a partir de los 10 días de iniciado el experimento.

Generalmente es aceptado que la temperatura elevada ($> 34^{\circ}\text{C}$) tiene un efecto masculinizante en la tilapia del Nilo. En este sentido, Wang y Tsai (2000) reportan que la exposición de alevines de tilapia del Nilo de 10 días de edad a temperaturas de $32\text{-}34^{\circ}\text{C}$ puede en algunos casos inducir masculinización gonadal e incrementar la proporción de machos. Lo anterior es posible, porque la determinación del sexo fenotípico en la tilapia del Nilo es un rasgo complejo, el cual no solo es determinado por factores genéticos primarios (locus XX/XY), sino que es producto de la interacción de estos factores genéticos primarios, con factores genéticos secundarios (efectos parentales) y factores ambientales (Wang y Tsai, 2000; Baroiller *et al.*, 2009),

especialmente la temperatura del agua durante el periodo de alevín. Trabajos previos en la tilapia del Nilo han observado una tendencia genética hacia la masculinización de las gónadas a temperaturas moderadamente elevadas (28 ± 1 °C), lo cual ha resultado en una proporción de machos elevada en varios grupos durante el proceso de reversión sexual (Contreras-Sánchez, 2001; Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014). En el presente trabajo la temperatura del agua se mantuvo entre 26 y 27 °C durante todo el tratamiento con MT con la intención de reducir el posible efecto de la temperatura del agua en la proporción de machos obtenida, para que esta manera los porcentajes de machos observados fueran el resultado del efecto del esteroide suministrado durante el periodo de alevín y no de la interacción de la gónada en diferenciación con la temperatura del agua. En este sentido, es importante mencionar que aunque en nuestro trabajo el grupo control registró un porcentaje de machos del 60%, en lugar del 50% esperado, este tipo de porcentajes son normalmente observados y son atribuidos a factores genéticos parentales (producto de la cruce de machos y hembras normales) (Baroiller *et al.*, 2009) y no al efecto de la temperatura del agua durante el periodo lábil.

En este trabajo, al término del tratamiento obtuvimos un peso significativamente superior entre los grupos tratados con MT en comparación con grupo control, lo cual confirma la influencia de la hormona suministrada en el crecimiento. Sin embargo, algunos autores (Guerrero, 1975; Owusu-Frimpong y Nijjhar, 1981; Torrans *et al.*, 1988; Phelps *et al.*, 1992; Vera y Mair 1994; Jiménez *et al.*, 1998) señalan que tal efecto no existe, ya que en sus experimentos no se ha encontrado una diferencia importante en el crecimiento entre los organismos tratados con hormonas y aquellos que recibieron un alimento sin hormona.

El efecto anabólico resultante del uso de andrógenos en la reversión sexual de tilapia es difícil de identificar. Varios estudios que han analizado mejoras en el crecimiento de los peces revertidos sexualmente en comparación con los no tratados, lo hacen comparando el crecimiento

de las poblaciones compuestas exclusivamente por peces machos contra una población sexual mixta, en la cual las hembras presentes muestran una tasa de crecimiento menor (Guerrero, 1975; Hanson *et al.*, 1983; Macintosh *et al.*, 1985; McAndrew y Majumdar, 1989). En el presente trabajo, en el grupo control se obtuvo un 40% de hembras, resultando este el grupo de los peces más pequeños al final del experimento. Lo anterior puede ser explicado por dos razones, una, su bajo crecimiento pudo haber sido debido a que no aceptaron de manera favorable el cambio de alimento (realizado al final del periodo de alevín, harina por migaja) en comparación de los peces tratados con MT, o dos, la mayor proporción de hembras, la cuales en la tilapia del Nilo, crecen más lento y son menos agresivas a la hora de alimentarse. Green *et al.* (1994) mencionan que cualquier crecimiento mejorado de la tilapia tratada con andrógenos está más relacionado con el crecimiento superior de los machos que con la respuesta anabólica relacionada con el aumento de la síntesis de proteínas y el aumento de musculo.

La biomasa ganada (BG) se define como el número de gramos o kilogramos producidos por cada tratamiento (Pachacama y Miguel, 2015). En nuestro experimento, la BG a través del experimento fue más alta en los grupos expuestos al esteroide, en especial en el tratamiento H25. Resultados similares han sido reportados por Pachacama y Miguel (2015) quien a los (35 días) obtuvo una BG de 132 g lo que permitió asumir que éste fue el mejor tratamiento en cuanto a producción se refiere en reversión sexual. Al igual que para la BG, la TCD en el presente trabajo fue más alta en los grupos expuestos al esteroide, aun después de acabar el periodo de hormonado. Lo anterior indica que el efecto del esteroide sobre el metabolismo del pez puede durar por varias semanas una vez terminado el periodo de reversión sexual. Resultados similares han sido reportados en trabajos previos realizados en distintas especies de tilapias (Meyer, 2004; Marcillo y Landivar, 2008; Beltrán-Álvarez *et al.*, 2009). Aunque es posible que la diferencia en la tasa de crecimiento entre sexos pueda ser responsable de las diferencias observadas, la falta de desarrollo

gonadal registrada al momento de colectar las gónadas (para realizar la técnica de Squash) indica que la maduración sexual no se ha hecho presente y por lo tanto los esteroides sexuales, que son los que permiten en gran medida esas diferencias, no se encuentran presentes en suficiente cantidad en la sangre aun.

El factor de conversión alimenticia (FCA) es un parámetro fundamental para evaluar la eficacia del alimento suministrado y de la frecuencia de alimentación, pues permite conocer la cantidad de alimento proporcionado en base seca, para producir un kilogramo de biomasa. Mientras más cercano está al valor de 1, es más eficiente la conversión alimenticia de los peces (Pachacama y Miguel, 2015). El FCA en los grupos expuestos al esteroide no mostró diferencias significativas en comparación con el grupo control, lo cual nos indica que el esteroide administrado no tuvo un efecto negativo sobre la tasa de alimentación. Sin embargo, aunque no se registraron diferencias significativas, se observa una tendencia hacia valores más bajos en los grupos expuestos al esteroide, lo cual pudo ser responsable por las diferencias observadas en la TCD entre el grupo control y los grupos tratados. De igual forma, estos valores apoyan la idea de que el efecto anabólico del esteroide pudo haber contribuido a los resultados observados, optimizando la absorción de nutrientes y reflejándola en un crecimiento somático mejorado. Alamillo (2001) señala que para un sistema de cultivo de tilapia en óptimas condiciones se recomienda un FCA promedio de 1.6 a 1.9 alimento/kg de tilapia. En nuestro experimento, los valores observados de FCA, se mantuvieron dentro de estos rangos casi la totalidad del experimento, lo cual nos indica el buen desarrollo de los peces bajo cultivo y tratamiento hormonal.

El factor de condición (FC) expresa, en peces, la relación volumétrica en función del peso. Dicho factor puede indicar el estado nutritivo de los organismos definido por la cantidad de

energía poseída (contenido de grasa disponible) en los peces para llevar a cabo varias funciones, incluido el crecimiento y la reproducción (Jones *et al.*, 1999; Neff y Cargnelly, 2004; Gupta *et al.*, 2012). El factor de condición también se puede usar para evaluar el estado fisiológico bajo un estresante potencial (Cifuentes *et al.*, 2012), como lo es un alevín de tilapia del Nilo alimentado con un andrógeno. En el presente estudio, el FC fue un poco variable entre los grupos durante la etapa final del período de alevín (30 días). Weatherley (1972) sugiere que esto podría ser causado por fluctuaciones en el equilibrio metabólico, patrones de maduración y el estado de plenitud del tracto digestivo. Sin embargo, durante el tiempo de tratamiento hormonal fue posible observar en general un factor de condición más bajo en los peces de grupos tratados con MT en comparación con los peces del grupo control. Cifuentes *et al.* (2012) mencionan que esta disminución podría interpretarse como el agotamiento de las reservas de energía almacenado como glucógeno del hígado o grasa corporal. El rápido crecimiento de los alevines hormonados en comparación con los alevines testigo podría explicar porque la grasa corporal (reserva) era menor en estos grupos y por lo tanto el FC. Para la tilapia del Nilo y sus híbridos bajo un desarrollo óptimo se han reportado valores cercanos a 2.0 (Little, 1989; El-Saidy *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2012), similares a los observados durante nuestro experimento, indicando el buen desarrollo de los tratamientos analizados.

El andrógeno utilizado en el presente trabajo tuvo efectos significativos sobre la composición sexual de las poblaciones de peces tratados. El porcentaje de eficiencia logrado con el método de reversión por alimentación en los grupos alimentados a diferentes tiempos se puede considerar exitoso, ya que de acuerdo a Phelps (2001) una masculinización exitosa mediante andrógenos debe tener un porcentaje de machos mínimo de 97%. Estos resultados también confirman que para que la reversión sexual sea exitosa debe abarcar solamente el periodo lábil de la especie en particular, el cual en el caso de la tilapia ha sido señalado alrededor de los 10 días

de edad (Wang y Tsai, 2000). Los elevados niveles de MT mantenidos durante los primeros 10 días de edad permitieron obtener un 100% de machos, indicando que esta duración (para el tratamiento hormonal) es suficiente para inducir un cambio permanente en la expresión genética de los genes involucrados en la diferenciación sexual de la gónada. De igual forma, nuestros resultados indican que hormonar durante 28 a 40 días no tiene un efecto significativo en la proporción de machos obtenidos. El 3% de hembras observado en el grupo alimentado durante 20 días con MT, probablemente fue causado el consumo en bajos niveles de la hormona durante el periodo de masculinización o bien por factores genéticos (Alcántar-Vázquez *et al.*, 2015).

El método de squash se desarrolló originalmente por Guerrero y Shelton (1974) para sexar la tilapia azul (*Oreochromis aureus*). La técnica se utiliza cuando se requiere saber con prontitud, el porcentaje de machos, una vez finalizado el tratamiento hormonal, ya que por lo general se puede utilizar desde alevines. Los criterios usados en este trabajo para definir las gónadas masculinas y femeninas al término del tratamiento con MT fueron los usados por los mismos autores. La presencia de círculos de gran tamaño indicó la presencia de ovocitos, mientras que la presencia de puntos de color rojo oscuro indicó la presencia de células espermáticas. Aunque la técnica se puede utilizar desde el periodo de alevín, en el presente trabajo se decidió realizar la evaluación hasta los 50 días de edad, por dos razones: la primera, observar el crecimiento obtenido en los grupos alimentados con el esteroide, y segunda, disminuir errores en la identificación de los sexos. Aunque se realizaron ensayos previos en nuestro laboratorio en peces de 30 días, los resultados obtenidos mostraron problemas para clasificar a algunos individuos, así como para obtener la gónada, especialmente en los juveniles de menor talla. Sin embargo, a los 50 días de edad, la identificación se realizó sin problemas. Nuestro trabajo se suma a varios estudios previos llevados a cabo en la tilapia del Nilo y especies del mismo género (Guerrero y Shelton, 1974; Varadaraj, 1989; Phelps y Warrington, 1999; López, 2007; Santamaría-Miranda,

2012; Wasserman y Bertolla, 2002) que comprueban la utilidad y eficacia de esta técnica.

La supervivencia final observada fue más alta en los grupos expuestos al esteroide en comparación con el grupo control, especialmente en el grupo alimentado por 20 días. Esto nos indica que el esteroide suministrado no tuvo efectos negativos en la supervivencia. El crecimiento observado en los grupos expuestos al esteroide apoya lo anterior. Valladares y Zaragoza (2012) y Ruiz (2017) reportan supervivencias finales similares a las obtenidas en el presente trabajo (93-94.6%). Sin embargo, trabajos previos reportan una supervivencia más baja después del tratamiento hormonal, que la obtenida en el presente trabajo, la cual va del 24 al 83% para los grupos expuestos al esteroide (Carranza, 1990; Espinoza *et al.*, 1995; Pérez, 2002; López, 2007; Cerritos *et al.*, 2008; Botero *et al.*, 2010; Pinza, 2014; Ramírez, 2015; Fukushima *et al.*, 2016).

De acuerdo a Cerritos *et al.* (2008) la supervivencia obtenida al final de un experimento de reversión sexual dependerá de varios factores tales como la especie, la concentración de la hormona, el PH, el amonio y la densidad de siembra. Estos factores pueden influir en la mortalidad durante la etapa de reversión sexual, así como después de que termine y hasta el final del experimento. En nuestro caso, la mortalidad observada en el grupo control probablemente esta relacionada al diseño experimental, ya que para este experimento se implementó por primera vez un protocolo de cultivo, el cual involucró 30 días de cultivo en acuarios de 85 L y otros 20 días de cultivo en estanques exteriores de 1000 L de capacidad. El traslado de los alevines y el cambio de alimento (por uno de mayor tamaño) no fueron bien aceptados por el grupo control, probablemente debido al menor tamaño en comparación con los grupos alimentados con el esteroide, lo cual derivó en una mortalidad elevada durante los días que siguieron a los cambios mencionados. Esta idea se apoya en el hecho de que al final del periodo de alevín (previo a los cambios mencionados), la supervivencia del grupo control se mantuvo arriba del 90%, al igual

que la de los grupos tratados con MT. En experimentos futuros será necesario optimizar este nuevo protocolo para reducir la probabilidad de una mortalidad como la observada en el grupo control.

De acuerdo a Goudie *et al.* (1986), el esteroide 17α -metiltestosterona se concentra en más del 90% en las vísceras del pez durante los días en que se suministra el esteroide y una vez que se termina el tratamiento decrece su concentración exponencialmente en un 90% dentro de las primeras 24 horas y 21 días después de que se terminó el tratamiento hormonal solo se conservó menos de 1% de la concentración original. Tratamientos hormonales largos (de 30 a 40 días) podrían retrasar la eliminación de los esteroides del cuerpo del pez, llevándolo hasta casi los tres meses de edad, mientras que tratamientos hormonales más cortos (de 10 a 20 días) podría reducir el tiempo que le toma al esteroide ser eliminado del cuerpo del pez (menos de 2 meses). Lo anterior es importante si se pretende que los consumidores actuales no se preocupen por la acumulación de hormonas en los peces a consumir e incrementen su consumo *per capita*.

10. CONCLUSIONES

- 1.- El esteroide utilizado es eficaz para revertir el sexo en la variedad Spring de la tilapia del Nilo.
- 2.- Un tratamiento de 10 días de duración es suficiente para inducir una reversión del 100%, obteniendo poblaciones compuestas por solo machos.
- 3.- El esteroide suministrado tiene un efecto anabólico positivo sobre los parámetros de crecimiento de los peces tratados y este efecto perdura por semanas después de acabado el tratamiento.
- 4.- No se presentó un efecto positivo o negativo del esteroide en la tasa de conversión alimenticia.
- 5.- La supervivencia no se ve afectada negativamente por el uso de esteroides.

11. RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar el mismo experimento con varias líneas genéticas de tilapia para comprobar los resultados obtenidos.

- 2.- Realizar el mismo experimento con alevines de distintas edades para determinar si el efecto del esteroide se ve reducido al aumentar la edad del alevín.

- 3.- Complementar este tipo de estudios con análisis bioquímicos, digestivos e histológicos para esclarecer el efecto del esteroide en el crecimiento de los alevines.

12. REFERENCIAS

- Alcántar-Vázquez, J.P., Santos-Santos, C., Moreno-de la Torre, R. y C. Antonio-Estrada (2014). Manual para la producción de supermachos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Sistema de Universidades Estatales de Oaxaca (SUNEO)-Universidad del Papaloapan (UNPA). 81 p.
- Alcántar-Vázquez, J.P., Rueda-Curiel, P., Calzada-Ruíz, D., Antonio-Estrada, C. y R. Moreno-de la Torre (2015). Feminización de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) con estradiol-17 β Efectos sobre el crecimiento, desarrollo gonadal y composición corporal. *Hidrobiológica*, 25(2): 275-283.
- Alamillo, (2001). Cultivo de tilapia. ZOE Tecno-Campo. México D.F. México. Disponible en: www.zoetecnocampo.com/documentos/tilapia/tilapia.htm. Consultado: octubre 2017.
- Almeida, C.J.W. (2014) Reversión sexual de tilapia roja *Oreochromis niloticus* utilizando dos tipos de andrógenos comerciales y un testigo andriol y proviron (tesis de pregrado). UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Machala, Ecuador, 51 p.
- Anderson, J., A.J. Jackson, A.J. Matty y B.S. Capper (1984). Effects of dietary carbohydrate and fibre on the tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 37: 303-314.
- Amado, J.A. y J. Flórez (2015). Hormonas sexuales: estrógenos, gestágenos, andrógenos y anticonceptivos hormonales. Disponible en: www.hvil.sld.cu/bvs/archivos/641_50hormonas%252520sexuales%252520estrogenos.%252520gestagenos.%252520androgenos.pdf. Consultado: Junio, 2017.
- Arias-Rodríguez, L. y S. Parámo-Delgadillo (2001). Biotecnología Cromosómica en Peces. Producción de peces Ginogenéticos, Androgenéticos y clones. *kuxulkab'*, 12: 1-13.

- Arboleda O. y A. Duván (2005). Reversión sexual de las Tilapias Roja (*Oreochromis sp.*). Una Guía básica para el acuicultor. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ®, Vol. 6 Disponible En: <http://www.redalyc.org/html/636/63617178008/>. Consultado: Junio 2017.
- Arredondo, F.J.L. y G.S. Lozano (1996). Cultivo de tilapia en México. Memorias del Primer curso Internacional de producción de tilapia. División de educación continua UNAM. 7-18.
- Baroiller J.F., D Cotta H., Bezault E., Wessels S. y G. Hoerstgen-Schwark (2009). Tilapia sex determination: where temperature and genetics meet. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 153: 30-38.
- Beltrán-Álvarez, R., P.J. Sánchez, G.L. Valdez y A.O. Salas. (2009). Edad y crecimiento de la mojarra *Oreochromis aureus* (Pisces: Cichlidae) en la Presa Sanalona, Sinaloa, México. Revista de Biología Tropical, 58: 325-338.
- Botero, M., Pineda, J. y N. Gallego (2010). Inmersión de ovas de tilapia roja (*Oreochromis spp*) en diferentes estadios de fertilización en una solución de 17 alfa-metiltestosterona y la proporción fenotípica del sexo. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 5: 38-47.
- Carranza, N.O. (1990). Utilización de la Hormona 17Alpha Metiltestosterona para el reverso del sexo en Tilapia (*Oreochromis niloticus*), Ministerio de Agricultura y Ganadería, Región paracentral centro de investigación y Desarrollo Pesquero Santa Cruz Porrillo, El Salvador, 16 p.
- Castillo-Montecinos J.A. (2012). Tratamiento hormonal para la obtención de tilapia macho para el cultivo intensivo en estanques de engorda. Tesis para obtener título de médico veterinario zootecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México, 38 p.
- Cerritos, M., Luis, J., Cerros Rodríguez, R. A., y C.B. Flores Martínez (2008). Métodos de masculinización inducida por andrógenos en alevines del híbrido rojo de tilapia

- (*Oreochromis sp.*); Inmersión de corto plazo y administración oral. Tesis Doctoral. Universidad de El Salvador, 113 p.
- Cifuentes, R., González, J., Montoya, G., Jara, A., Ortiz, N., Piedra, P. y E. Habit (2012). Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuena del río Valdivia, Chile). *Gayana (Concepción)*, 76: 86-100.
- Cnaani A. y G. Hulata (2008). Tilapias. En: *Genome mapping and genomics in fishes and aquatic animals*. Kocher T.D. y C. Kole (Eds.) Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. Vol. 2. 101-116.
- CONAPESCA. (2016). Informe En: Oaxaca día a día. Disponible en: <http://oaxacadiaadia.com/2016/08/31/crece-53-produccion-de-tilapia/>
- CONAPESCA. (2017). Informe En: Blog Conapesca. Disponible en: <http://www.gob.mx/conapesca/articulos/presenta-produccion-de-tilapia-incremento-de-un-15-6-por-ciento-en-2016>
- 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, USA. 193 p.
- Daza, V.P., Parra, L. y S. Ochoa (2005). Reproducción de los peces del trópico. Universidad Nacional de Colombia. (INCODER). 241 p.
- Delgadillo, S. (2006). Proceso de Hormonización de crías de Tilapias: Análisis y Alternativas. Disponible en: <http://www.elpedregal.com/pdf/tilapiahormonado.pdf>. Consultado: Junio 2017.
- Desprez, D., Mérlard, D.C., Hoareau, M.C., Bellemene, Y., Bosc, P. y J.F. Baroiller (2003). Inheritance of sex in two ZZ pseudofemales lines of tilapia *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 218: 131-140.

- El pedregal S.A de C.V., Alimentos para acuicultura. Disponible en: http://www.cib.uaem.mx/pdf/recomendaciones_para_la_utilizacion.pdf. Consultado: Junio 2017.
- El-Saidy, S.D., Deyab, M., Gaber, M.M., y A.S. Abd-Elshafy (2005). Evaluation of cluster bean meal *Cyamopsis fefrugonoloba* as a dietary protein source for common carp *Cyprinus carpio* L. Journal of the World Aquaculture Society, 36(3): 311-319.
- Enríquez, A.R, Sosa, I. y J.L. Arredondo (2004). Producción de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) masculinizada con la hormona fluoximesterona en sistemas cerrados de recirculación. Planta Experimental de Producción Acuícola. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. Disponible En: www.civa2003.org. Consultado: Junio 2017.
- Espinoza, O.F, Monge, C.S. y E.D. Sancho (1995) Reversión de sexo en Tilapia (*Oreochromis niloticus*) en la Estación Acuícola Enrique Jiménez Nuñez In: primer simposio Centroamericano sobre el cultivo de Tilapia, INCOPECA, PRADEPECA, ACUACORPORACION, Escuela de Ciencias Biológicas, San José, Costa Rica 102-105p.
- 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. En: fisheries global information system (FIGIS). Disponible en: <http://www.fao.org/fisheryes/figis/es>
http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es. Consultado: Junio 2017.
- FAO. (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma. 253 pp.
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.

- FishStatJ. (2016). Estadísticas mundiales de pesca y acuicultura de la FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en>. Consultado: Junio 2017.
- Flynn, S.R. y T.J. Benfey (2007). Effects of dietary estradiol-17 β in juvenile shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, Lesueur. *Aquaculture*, 270: 405-412.
- Fukushima, M., Alva, R., Castillo, G., Calderón, C., Shimokawa, L. y J. Fukushima (2016). Adaptación de nuevas tecnologías para implementación del módulo demostrativo en el cultivo de tilapia en La Libertad. *Scientia Agropecuaria*, 7(3): 321-331.
- García, A., Tume, J. y J. Victor (2015). Determinación de los parámetros de crecimiento de la Tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*) en un estanque revestido con geomembrana y abastecido con agua de subsuelo. Disponible en: http://www.uap.pe/investigaciones/Esp/Revista_15-02_Esp_05.pdf . Consultado: octubre, 2017
- Green, B.W. y D.R. Teichert-Coddington (1994). Growth of control and androgen-treated Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), during treatment, nursery and grow-out phases in tropical fish ponds. *Aquaculture Research*, 25(6): 613-621.
- Gómez-Ponce, M. A., Granados-Flores, K., Padilla, C., López-Hernández, M., y G. Núñez-Nogueira (2011). Edad y crecimiento del híbrido de tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* (Perciformes: Cichlidae) en la represa “Zimapán” Hidalgo, México. *Revista de Biología Tropical*, 59(2), 761-770.
- Goudie, C.A., Shelton, W.L. y N.C. Parker (1986). Tissue distribution and elimination of radiolabelled methyltestosterone fed to adult blue tilapia. *Aquaculture*, 58(3-4): 227-240.
- Guerrero, R. D. y W.L. Shelton (1974). An acetocarmine squash method for sexing juvenile fishes. *Progressive Fish-Culturist*, 36: 56-64.

- Guerrero, R.D. (1975). Use of androgens for the production of all-male tilapia-aurea. Transaction of the American Fisheries Society, 104: 342-348.
- Gupta, N., Haque, M.M. y M. Khan. (2012). Growth performance of tilapia fingerling in cage in ponds managed by Adivasi households: an assessment through length- weight relationship. Journal of the Bangladesh Agricultural University, 10: 149-155.
- Hanson, R., Smitherman, R.O., Shelton, W.L. y R.A. Dunham (1983). Growth comparisons of monosex tilapia produced by separation of sexes, hybridization and sex-reversal. pp. 570-579. In: Fishelson, L. y Z. Yaron (Eds.). Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 8-13 May 1983. Nazareth, Israel, Tel-Aviv University.
- Hickling, C.F. (1960). The Malacca tilapia hybrids. Journal of Genetics, 57: 1-10.
- Hiott, A.E. y R.P. Phelps (1993). Effects of initial age and size on sex reversal of *Oreochromis niloticus* fry using methyltestosterone. Aquaculture, 112: 101-108.
- Hurtado, T.N. (2005). Inversión sexual en tilapias. Revisión bibliográfica. INH, Ingenieros Consultores. Lima, Perú. 43 p.
- Jiménez B.M. L. y J.L. Arredondo (2000). Manual técnico para la reversión sexual de Tilapia. Serie Desarrollos Tecnológicos. Universidad Autónoma Metropolitana. 36 p.
- Jiménez B.M. L., Arredondo F.J.L. y C.A. Cuenca (1998). Efecto de la talla y edad de inicio de tratamiento en la inducción de reversión sexual de tilapia Rocky Mountain. Memorias de VI Congreso Nacional de Ictiología. Tuxpán, Veracruz del 21 a 24 de Octubre. 114p.
- Johnstone, R., Simpson, T.H. y A.F. Youngson (1979). Sex reversal in salmonid culture. Part II. The progeny of sex-reversed rainbow trout. Aquaculture, 18: 13-19.
- Jones, R., Petrell, R. y D. Pauly (1999). Using modified length-weight relationships to assess the condition of fish. Aquacultural Engineering, 20: 261-276.

- Kuwaye, T.T., Okimoto, D.K. Shimoda, K.S. Howerton, D.R., Lin, H.R., Pang, K.T. y E.G. Grau (1993). Effect of 17α -methyltestosterone on the growth of the euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, in fresh water and sea water. *Aquaculture*, 113: 137-152.
- Ladu, L.B. y A.A. Madara (1994). El uso de andrógenos sintéticos y naturales para la producción de monosex machos *Oreochromis niloticus* (Piscis). *Revista Biología Tropical*, 42(3): 755-757.
- Little, D.C. (1989). An evaluation of strategies for production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry suitable for hormonal treatment. 451: 200-231.
- Lopategui, C.E. (2012). Disponible en: www.saludmed.com/articulos/fisiologia_del_ejercicio/Ergogenia_Y_Dopaje.html. Consultado: Junio 2017.
- López, C.A., Carvajal, D.L. y M.C. Botero (2007). Masculinización de tilapia roja (*Oreochromis* spp) por inmersión utilizando 17 alfa-metiltestosterona. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20: 318-326.
- Macaranas, J.M., Mather, P.B., Lal, S.N., Vereivalu, T., Lagibalavu M. y M.F. Capra (1997). Genotype and environment: A comparative evaluation of four tilapia stocks in Fiji. *Aquaculture*, 150: 11-24.
- Macintosh, D.J., Varghese, T.J. y G.P. Satyanarayana-Rao. (1985). Hormonal sex reversal of wild-spawned tilapia in India. *Journal of Fish Biology* 26: 87-94.
- Marcillo E. y J. Landívar (2000). Tecnología de producción de alevines "monosexo de tilapia". Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, 15: 20-49.
- Marcillo, G. E. y Z.J. Landivar (2008). Tecnología de Producción de alevines monosexo de tilapia. Guayaquil: Artes Gráficas Senefelder C.A. 2000, vol. 22.

- Meyer, D. (2004). Introducción a la acuicultura. Disponible en: http://pdacrsp.oregonstate.edu/pubs/featured_titles/Introduccion%20AcuacAcuacu.pdf. Consultado: octubre, 2017.
- McAndrew, B.J. y K.C. Majumdar (1989). Growth studies on juvenile tilapia using pure species, hormone-treated and nine interspecific hybrids. *Aquaculture and Fisheries Management*, 20: 35-47.
- Melard, C.J. (1995). Production of a high percentage of male offspring with 17 alpha-ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. I. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudofemales. *Aquaculture*, 130: 25-34.
- Nakamura, M. y M. Takahashi (1973). Gonadal sex differentiation in tilapia *mossambicus*, with special regard to the time of oestrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic females. *Bulletin of the faculty of fisheries, Hokkaido University*, 24: 1-13.
- Neff, B.D. y L.M. Cargnelli (2004). Relationships between condition factors, parasite load and paternity in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. *Environmental Biology of Fishes*, 71: 297-304.
- Ordóñez G., Carlos A., Recalde V. y C. Vanessa (2017). Estudio de la reversión sexual en tilapias *Oreochromis* ssp. por el método de inmersión con 17 alfa metiltestosterona. Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Extensión Santo Domingo, 50 p.
- Owusu-Frimpong, M. y B. Nijjar (1981). Induced sex reversal in *Tilapia nilotica* (Cichlidae) with methyltestosterone. *Hydrobiologia*, 78: 157-160.

- Pachacama, A., y L. Miguel (2015). Influencia de alimentación hormonal en la reversión sexual y crecimiento de tilapia roja (*Oreochromis* spp.). Tesis de Licenciatura. Escuela Politécnica Nacional. Centro Piscícola Nanegal, 147 p.
- Pérez, R. (2002). Evaluación de tres hormonas sintéticas para la reversión de sexo de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Tesis Ing. Agrónomo. Honduras. Zamorano. 25 p.
- Phelps, R.P. (2001). Sex Reversal: the directed control of gonadal development in tilapia. In Sexto Simposio Centroamericano de Acuicultura. Ed. Por Daniel E. Meyer. Tegucigalpa, Honduras. 35-60 p.
- Phelps, R.P., W. Cole y T. Katz (1992). Effect of fluoxymesterone on sex ratio and growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture and Fisheries Management*, 23: 405-410.
- Phelps, R.P., Arndt, J.T., y R.L. Warrington (1999). Masculinization of tilapia fry by immersion in trenbolone acetate (TBA) at a production level. Sixteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture CRSP, Oregon State University, 79-80.
- Piferrer, F. (2001). Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, 197: 229–281.
- Pinza, J. (2014). Manejo de reproductores y de la calidad del agua para mejora de la producción de alevinos de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en la estación piscícola Fish-Flow. (Tesis Pre-grado). Universidad de Nariño. Colombia. Recuperado de: <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/90745.pdf>
- Ponzoni, R.W., Hamzah, A., Tan, S. y N. Kamaruzzaman (2005). Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 247: 203-210.
- Ramírez, S. (2015). Evaluación de la inversión sexual de tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) bajo un sistema de bioflocs. (Tesis Pre-grado). Universidad Nacional Agraria La Molina. 45 p.

- Rincón-Villafuerte, J. (2008). Uso de fluoximesterona en la inversión sexual de la tilapia de la línea *Niloticus Stirling* en el centro acuícola Jala, Tecoman, Col.,. Tesis profesional para obtener el grado de médico veterinario zootecnista. Universidad de Guadalajara centro universitario de ciencias biológicas y agropecuarias división de ciencias veterinarias. Las agujas zapopan Jalisco, 42 p.
- Ruiz A.G.E. (2017). Fecundidad y tasa de supervivencia en larvas y alevines de “tilapia” (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) en condiciones de laboratorio. Tesis para obtener el título profesional de biólogo. Universidad Nacional de Piura facultad de ciencias escuela profesional de ciencias biológicas. Perú, 113 p.
- SAGARPA, (2016). Comunicado de prensa. Oaxaca con potencial en la producción de tilapia. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/oaxaca/boletines/2016/noviembre/Documents/2016B094.pdf>
- Santamaría, M.A., Heredia, B.J., Apún, M.P., Román, V.M., García, R.L., y S.J. Trigueros (2012). Masculinización de la tilapia roja (*Oreochromis spp*) con el esteroide acetato de trembolona (ATB) suministrada en el alimento. Revista de sociedad, cultura y desarrollo sustentable, Volumen 8, No. 3: 137-142.
- Shelton, W.L., Guerrero, D.R. y J.L. Macias (1981). Factors affecting androgen sex reversal of *Tilapia aurea*. *Aquaculture*, 25: 59-65.
- Statistica V. 8. Weiß, C. H. (2007). Statsoft, inc., tulsa, ok.: Statistica, version 8. ISO 690.
- Tayamen M.M. y W.L. Shelton. (1978). Inducement of sex reversal in *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture*, 14: 349-354.
- Tacon, A.G., K. Jauncey, A. Falaye, M. Pantha, I. MacGowan y E.A. Stafford. (1983). The use of meat and bone meal, hydrolysed and soybean meal in practical fry and fingerling diets for

- (*Oreochromis niloticus*). I International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Tel Aviv University Press, 356-365.
- Torrans, L., F. Meriwether, F. Lowell, B. Wyatt y P. Gwinup, (1988). Sex-reversal of *Oreochromis aureus* by immersion in Mibolerone, a synthetic steroid. *Journal of the World Aquaculture Society* 19(3): 97-102.
- Tran, L.D., Dinh, T.V., Ngo, T.P. y R. Fotedar (2011). En: Recent advances and new species in aquaculture. Fotedar R.K. y Phillips B.F. (Eds). Blackwell Publishing Ltd. Iowa. 319-333.
- Torres-Hernández, P., Nucamendi-Rodríguez, G. B., Pintos-Terán, P. y J.A. Montoya-Márquez (2010). Masculinización de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) por inmersión en fluoximesterona y testosterona enantato. *Zootecnia Tropical*, 28(3): 341-351.
- Valladares, Díaz M.E. y N.P. Zaragoza Leiva (2012). Evaluación de tres hormonas sintéticas para la Reversión del sexo de alevines de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). Tesis de Ingeniero Pesquero. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. Huacho Perú, 25p.
- Varadaraj, K. y T.J. Pandian (1989). First report on production of supermale tilapia by integrating endocrine sex reversal with gynogenetic technique. *Current Science*, 58(8): 435.
- Vera, C.E. y G.C. Mair, (1994). Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 122: 237-248.
- Vera-Cruz M.E., Mair C.G. y O.R. Marino (1996). Feminization of genotypically YY Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Asian Fisheries Science*, 9: 161-167.
- Vidal, L.J. Contreras, S.W., Álvarez, G.A. Hernández, F.A. y V.U. Hernández (2010). Técnicas de Reversión Sexual aplicadas en Acuicultura. *Kukulkab'*, 15: 49-54.
- Von-Hessberg, C.M.H., Grajales-Quintero, A., y M.A. Restrepo-Murillo (1983). Monografía de protocolos Para obtener poblaciones Monosexo de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*; TREW. *Boletín Científico*, 156 p.

- Wang, L.H. y C.L. Tsai (2000). Effects of temperature on the deformity and sex differentiation of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Journal of Experimental Zoology, 286: 534-537.
- Wasserman, G. J. y A.L. Bertolla (2002). Validation of the acetato-carmin technique for evaluating phenotypic sex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. Disponible en: www.scielo.br/pdf/cr/v32n1/a23v32n1.pdf. Consultado: octubre 2017.
- Weatherley, A.H. (1972). Growth and ecology of fish populations. In growth and ecology of fish populations. Academic Press. 293.
- Yamamoto, T. (1953). Artificiality induced sex reversal in genotypic males of the Medaka (*Oryzias latipes*). Journal of Experimental Zoology, 123: 405-410.
- Yamamoto, T. (1969). Sex differentiation. In: Hoar, W.S. y D.J. Randall (Eds). Fish Physiology Vol. III. Academic press. New York, USA. 200: 117-175.