

---

# EVALUACIÓN DE LA PROPORCIÓN DE SEXOS EN LA PROGENIE DE HEMBRAS XY DE TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS CON 17 $\alpha$ -ETINILESTRADIOL DURANTE EL PERIODO DE ALEVÍN

## EVALUATION OF SEX PROPORTION IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) XY FEMALES FEED 17 $\alpha$ -ETINILESTRADIOL DURING THE FRY PERIOD.

VARINIA JUÁREZ-JUÁREZ, JUAN PABLO ALCÁNTAR-VÁZQUEZ\*, ANTONIO MARÍN-RAMÍREZ, CAROLINA ANTONIO-ESTRADA, RAÚL MORENO DE LA TORRE

<sup>1</sup>Laboratorio de Acuicultura, Des: Ciencias Agropecuarias. Universidad del Papaloapan (UNPA). Av. Ferrocarril s/n, Col. Ciudad Universitaria, Loma Bonita, Oaxaca. C.P. 68400.

Corresponding author [jupasoul@hotmail.com](mailto:jupasoul@hotmail.com)

---

### INTRODUCCIÓN

Bajo cultivo mixto, la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alcanza la madurez sexual mucho antes de alcanzar el tamaño comercial (Jiménez y Arredondo, 2000; Arboleda-Obregón, 2005). Por lo tanto, en la cría comercial de tilapia del Nilo, la reproducción durante el crecimiento es un problema importante, lo que lleva a la presencia en exceso de alevines y juveniles en los estanques y, en última instancia, da como resultado una gran variedad de tamaños de peces al momento de la cosecha en lugar de peces más grandes y uniformes (Mair *et al.*, 1997; Tariq-Ezaz *et al.*, 2004). Para evitar lo anterior, se han desarrollado una serie de técnicas para producir una población monosexo, completamente de machos. Los cultivos monosexo de tilapia del Nilo muestran un mejor crecimiento que los cultivos mixtos, y durante muchos años ha sido reconocida como la técnica más efectiva para aumentar la producción de tilapia en cultivos comerciales (Mair *et al.*, 1997; Müller & Hörstgen 2007; Nonglak *et al.*, 2012).

La reversión hormonal del sexo durante el período de alevín es el método más comúnmente utilizado para producir poblaciones exclusivamente de machos. Sin embargo, en los últimos años este método ha sido cada vez más cuestionado, ya que existe una creciente preocupación en todo el mundo por la acumulación de hormonas en el medio ambiente (especialmente en aguas marinas) y un número creciente de consumidores que no quieren comer productos que han sido tratados con hormonas (Piferrer, 2001; Müller & Hörstgen, 2007; Leet *et al.*, 2011). Una

alternativa viable, a escala comercial, es la producción de machos YY, que cuando se combinan con hembras normales (XX) producen progenies compuestas, en teoría, de 100% machos genéticos. La producción de machos YY en los últimos años en la Universidad del Papaloapan ha llevado a intentos de optimizar la tecnología YY. Una alternativa para optimizar la obtención de tilapia macho YY Nilo es la feminización de la progenie de hembras XY. Esta feminización permitirá la producción de dos genotipos; hembras XY y hembras con dos cromosomas Y (hembras YY). Las hembras YY se utilizarán para producir poblaciones compuestas de machos 100% YY cuando se cruzan con machos YY. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de la hormona  $17\alpha$ -etinilestradiol administrado oralmente durante el período de alevín en la proporción de sexos e índice gonadosomático de hembras XY de tilapia del Nilo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las hembras XY se produjeron alimentando alevines con  $120 \text{ mg kg}^{-1}$  de alimento tratado con  $17\beta$ -estradiol (53% de proteína) durante 30 días. Se criaron durante 18 meses en la estación de acuicultura de la Universidad del Papaloapan y se alimentaron dos veces al día con pellets comerciales (32% de proteína, Nutripec, Agribrands Purina).

La hormona sintética  $17\alpha$ -etinilestradiol ( $\text{EE}_2$ , Sigma Aldrich Chemical Co.) se agregó a la harina de pescado comercial ( $<0,35 \text{ mm}$ , 53% de proteínas) utilizando el método descrito por Guerrero (1975). Se agregaron cuatro niveles de tratamientos hormonales con  $\text{EE}_2$  al alimento: 100, 200, 300 y  $400 \text{ mg kg}^{-1}$ . El alimento del grupo de control se manejó exactamente de la misma manera con la excepción de la hormona agregada. Los alevines obtenidos de la cruce de hembras XY con machos normales se recolectaron 15 días después de iniciado el proceso. Las alevines se agruparon, se transportaron a un sistema de recirculación cerrado y se dividieron aleatoriamente en 15 acuarios acrílicos de 85-L (tres acuarios por tratamiento) a una densidad inicial de 1 alevín  $\text{L}^{-1}$ . El agua en el sistema de recirculación se filtró utilizando un filtro mecánico (Hayward, Modelo S310T2) y un biofiltro que contiene solo bio-bolas de plástico (Aquatic Eco-System, Modelo CBB1, Pentair Ltd.).

El tratamiento hormonal duró 20 días bajo un fotoperíodo de 12L:12O y con la temperatura del agua ajustada termostáticamente a  $26.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . Los alevines se alimentaron a intervalos de 1 hora con una relación de alimentación del 20% de su peso corporal total. Una vez que se completó el tratamiento hormonal, los alevines se alimentaron con una dieta comercial sin tratar (50% de proteína) durante 10 días más hasta que finalizó el período de alevín. Al final del período de alevín, los juveniles se transfirieron a tanques de concreto al aire libre de 3 m de diámetro provistos de agua fertilizada y se criaron hasta la madurez sexual (cuatro meses de edad). Durante este período, los juveniles se alimentaron de acuerdo a calendarios de alimentación sugeridos por Purina para la tilapia del Nilo.

Evaluación de la proporción de sexos. El sexo de 60 peces por tratamiento (20 peces por cada réplica) se determinó eliminando la gónada. Las gónadas fueron clasificadas como ovarios o testículos. Posteriormente la gónada fue pesada para obtener el índice gonadosomático. La proporción de hembras identificadas en cada tratamiento se probó contra la expectativa de 3:1 (macho: hembra) utilizando una prueba de chi cuadrado con una probabilidad del 0.1% ( $P < 0.001$ ). Las diferencias en el índice gonadosomático entre los diferentes tratamientos se analizaron mediante un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se encuentran contenidos en la Tabla 1. En el presente trabajo fue posible observar un incremento en la proporción de hembras al incrementar la concentración de EE<sub>2</sub>. A este respecto, Hopkins *et al.* (1979) reportan un incremento en la proporción de hembras obtenida en la tilapia azul (*O. aurea*) conforme se incrementó la concentración de EE<sub>2</sub> proporcionada. De igual forma, Mélard (1995), obtuvo un 100% de hembras utilizando en la tilapia azul una dieta con 200 mg kg<sup>-1</sup> de EE<sub>2</sub>. En nuestro experimento no se alcanzó un 100% de feminización, probablemente causado por la utilización de hembras XY, las cuales muestran un porcentaje de machos (en teoría) del 75% en comparación con el 50% de hembras normales bajo condiciones normales. Adicionalmente ha sido reportado que la feminización de machos YY (presentes en la progenie de hembras XY en un 25%) puede ser mucho más complicada que la feminización de machos normales (XY). Estos factores pudieron haber contribuido a que los porcentajes de feminización, aunque elevados, no alcanzaran un 100%, a pesar de utilizar dosis elevadas de EE<sub>2</sub>.

**Tabla 1.** Porcentaje de supervivencia (S), proporción de sexos e índice gonadosomático (IGS) en adultos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con 17 $\alpha$ -etinilestradiol, a diferentes concentraciones durante el periodo de alevín.

Dosis Hormonal mg kg <sup>-1</sup>	NPA*	S (%)	Proporción de sexos		IGS
			M	H	
Control	60	99.1	81	19	0.94±0.23 <sup>b</sup>
100	60	87.2	21	79**	1.41±0.28 <sup>ab</sup>
200	60	72.6	11	89**	1.89±0.27 <sup>a</sup>
300	60	82.6	16	84**	1.39±0.21 <sup>ab</sup>
400	60	88.4	10	90**	1.11±0.21 <sup>ab</sup>

\*Número de peces analizados \*\*Se desvía significativamente de la proporción 3:1 esperada Para hembras XY ( $P < 0.001$ ). Superíndices de distinta letra indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

Estudios realizados han demostrado que una exposición continua a compuestos sintéticos causa un deterioro en el desarrollo gonadal, basado en la reducción observada del IGS, al igual

que los cambios morfológicos e histológicos que sufrieron las gónadas (Linderoth et al., 2006; Marchand et al., 2008; Louiz et al., 2009). En nuestro trabajo, el examen gonadal de los peces del grupo control y aquellos expuestos a diferentes concentraciones de EE<sub>2</sub> arrojó diferencias significativas, con el grupo que alimentado con la concentración de 200 mg kg<sup>-1</sup> mostrando los valores más altos de IGS. Sin embargo, es importante mencionar que en este caso todos los grupos alimentados con EE<sub>2</sub> mostraron un mayor IGS que el grupo control. Esto nos indica, como se comentó anteriormente, que el EE<sub>2</sub> no mostró efectos negativos a nivel fisiológico sobre el desarrollo de la tilapia del Nilo. De igual forma, es indicativo del cambio de machos a hembras en los grupos tratados hormonalmente. En el grupo control, la proporción de hembras fue menor al 20 %, mientras que en los grupos alimentados con EE<sub>2</sub> fue cercana o mayor al 80%. Las hembras de tilapia del Nilo, por lo general, muestran un mayor desarrollo gonadal en comparación con los machos. Lo anterior como resultado del gran tamaño que presentan sus oocitos (huevos) en comparación con los de otros peces teleósteos. La producción de oocitos se traduce, por lo tanto, en un mayor IGS en comparación con la producción de espermatozoides por parte de los machos.

Aunque no se alcanzó un 100% de feminización utilizando EE<sub>2</sub> a elevadas concentraciones, los porcentajes obtenidos, en adición al excelente crecimiento, índice gonadosomático y supervivencia observados en los grupos alimentados con EE<sub>2</sub>, nos garantiza una adecuada producción de machos XY y hembras YY, los cuales podrán ser utilizados como reproductores dentro del paquete tecnológico de producción de machos YY de la tilapia del Nilo desarrollado a interior de la universidad del Papaloapan.

## CONCLUSIÓN

Incrementando la concentración de EE<sub>2</sub> proporcionada a través de la dieta es posible incrementar la proporción de hembras obtenidas. Sin embargo, la administración de altas concentraciones de EE<sub>2</sub> en la progenie de hembras XY de tilapia del Nilo no garantiza una feminización del 100%. La aplicación EE<sub>2</sub> a elevadas concentraciones no resulta en un decremento del IGS causado por una inhibición del desarrollo gonadal.

## REFERENCIAS

- Hopkins, D.K., Shelton, L.W. y Engle, R.C. (1979). Estrogen sex-reversal of *Tilapia aurea*. *Aquaculture*, 18, 263-268.
- Guerrero, R. (1975). Use of androgens for the production of all-male *tilapia aurea* (Steindachner). *Transactions of the American Fisheries Society*, 2:324-348.
- 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.

- Linderoth, M., Hansson, T., Liewenborg, B., Sundberg, H., Noaksson, E., Hanson, M., Zebühr, Y. y Balk, L. 2006. Basic physiological biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Journal of Marine Pollution Bulletin*, 53(8–9):437-450.
- Louiz, I., Ben-Attiab, M. y Ben-Hassinea, O. (2009). Gonadosomatic index and gonad histopathology of *Gobius niger* (Gobiidea, Teleost) from Bizerta lagoon (Tunisia): Evidence of reproduction disturbance. *Fisheries Research*, 100:266-273.429.
- Mair, G. C., Abucay, J. S., Skibinski, D. F. y Beardmore, J. A. 1997. Genetic manipulation of sex ratio for the large scale production of all-male tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 54:396-404.
- Marchand, M. J., Pieterse, G. M. y Barnhoorn, I. J. (2008). Preliminary results on sperm motility and testicular histology of two feral fish species, *Oreochromis mossambicus* and *Clarias gariepinus*, from a currently DDTsprayed area, South Africa. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(4):423-429.
- Mélard, C. (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.
- Muller, 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. *Deutscher Tropentag*. 5-7 p.
- Piferrer, F. (2001). Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, 197:229-281.
- Nonglak, P., Boonanuntanasarn, S., Jangprai, A., Yoshizaki, G. y Nanakorn, U. (2012). Pubertal effects of 17 $\alpha$ - methyltestosterone on GH-IGF-related genes of the hypothalamic-pituitary-liver-gonadal axis and other biological parameters in male, female and sex-reversed Nile tilapia. *General and Comparative Endocrinology*, 177, 278-292.
- Tariq-Ezaz, M., Myers, J., Powell, S., Mcandrew, B. y Penman, D. (2004). Sex ratios in the progeny of androgenetic and gynogenetic YY male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 232, 205-214.