



UNIVERSIDAD DEL PAPA LOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD ESPERMÁTICA EN
MACHOS Y DE TILAPIA DEL NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

TESIS

Para obtener el grado de
Maestro en Biotecnología

PRESENTA
JONATHAN FERNÁNDEZ SANTOS

Director de Tesis
**DR. VÍCTOR MANUEL
MEZA VILLALVAZO**

Co-Director de Tesis
**DR. JUAN PABLO
ALCÁNTAR VÁZQUEZ**

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México, 2019



UNIVERSIDAD DEL PAPAŁOAPAN

DIVISIŁN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO	DEP/2019/002
ASUNTO	AutorizaciŁn de impresiŁn de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, MŠxico a 8 de enero de 2019

L. P. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
JEFA DE SERVICIOS ESCOLARES
UNIVERSIDAD DEL PAPAŁOAPAN

Sirva la presente para informarle que el jurado del examen para obtener el grado de Maestro en BiotecnologŁa del **C. Jonathan FernŁndez Santos**, matrŁcula **16140005**, ha autorizado la impresiŁn del manuscrito que lleva por tŁtulo "**EvaluaciŁn de la calidad espermŁtica en machos YY de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*)**" para su posterior presentaciŁn y defensa por parte del sustentante.

De antemano agradezco su atenciŁn, sin mŁs que agregar, quedo a sus Łrdenes.

Atentamente

terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chŁ jŁ jŁ



Dr. Adolfo Lopez Torres
Jefe de la DivisiŁn de Estudios de Posgrado

C.c.p. C. Jonathan FernŁndez Santos
C.c.p. Archivo

CAMPUS TUXTEPEC
C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial,
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.
Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA
Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria,
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.
Tel. 01(281)8729230



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

OFICIO	DEP/2019/MB/001
ASUNTO	Jurado de Examen de Grado

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, a 8 de enero de 2019

C. JONATHAN FERNÁNDEZ SANTOS
ESTUDIANTE DE LA MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Por este medio le informo que el jurado de su examen para obtener el grado de Maestría en Biotecnología estará integrado por los siguientes investigadores.

Dr. José Abad Zavaleta	UNPA	Presidente
Dra. Tania Zuñiga Marroquín	UNPA	Vocal
Dr. Víctor Manuel Meza Villalvazo	UNPA	Secretario
M.C. Cecilio Ubaldo Aguilar Martínez	UNPA	1er Suplente
Dr. Héctor Magaña Sevilla	TNM-ITConkal	2º Suplente

Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.



Dr. Adolfo López Torres
Jefe de la División de Estudios
de Posgrado

Atentamente

terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chí jí jú

M. en C. Héctor López Arana
Vice-rector Académico
Vo. Bo.



C.c.p. Dr. Víctor Manuel Meza Villalvazo – Director de tesis.
C.c.p. L. P. Yesenia Barrientos Arenal – Jefa de Servicios Escolares.
C.c.p. Archivo

CAMPUS TUXTEPEC
C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial.
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.
Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA
Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.
Tel. 01(281)8729230

“Depende a quien le preguntes, puedo ser un hombre cualquiera pero nunca del montón. Nadie es completamente bueno o malo, la conciencia nos dicta quienes somos de acuerdo a que es mejor para la etapa en la que vivimos. Lo difícil es siempre conservar quienes somos, que queremos ser y cuando sin importar cuanto el entorno nos parezca orillar a otro estado de consciencia”.

Jhony Fdez. S.

DEDICATORIA

Dedicado al conjunto de sentimientos que tuve que afrontar y vivir para saltar un peldaño, a la ambición de un hombre y al hambre de conquistar un mundo desconocido fomentado con la idea de; “la constancia es para el que quiere perseverar”. Efectivamente, el esfuerzo estuvo presente para demostrarlo una y otra vez.

Existen diversas razones para realizar investigación (tanto personales como las más nobles), pero sin importar cuál sea la razón todo nace de un deseo, y este es acompañado de un sin número de eventos que se vuelven un punto de paso forzado fuera de nuestro control y que desembocaran para culminarlo o desecharlo. Deseo que como yo, contemos con los sentimientos de un objetivo valioso (que valga la pena superar estos eventos) y no solo un objetivo de crecer como un vegetal (solo porque sí), de lo contrario no habrá triunfo ni logro, solo un vacío “LO HICE”.

AGRADECIMIENTOS

Por supuesto que fue gracias a mis padres que han jugado el rol de apoyo y guía en momentos de duda, un padre que siempre ha creído en el poder del estudio que nos brindó, a ti mamá GRACIAS DE TODO CORAZÓN pues no hay palabras que describan la maravilla de contar contigo.

Mis directores de tesis, Doctores muy capaces que fueron quienes lograron convertir un escrito con un sinfín de malas redacciones, en una tesis y una investigación que ahora vale todo el tiempo del mundo para su lectura y aprovechamiento, puede que no sea perfecta pero puede ser base de futuros logros.

Ha Rocío Márquez Reyes por ser la única persona que conoció el inicio incierto de tan solo parte de un proyecto de vida que culminó en 3 años después, con otro proyecto y el inicio de una nueva investigación; la de ser PADRE de una hermosa niña, mi Lila Mabel.

Amigos y conocidos que compartimos una bebida, doctores que prefirieron ser amigos y no sólo profesores, ustedes crearon parte de esos sentimientos de “puedo seguir adelante, no es tan pesado, hay que aprovechar la maestría y si él pudo porque yo no”. La UNPA se convirtió en un ambiente muy agradable por ustedes.

CONTENIDO

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
CONTENIDO	vii
CONTENIDO DE CUADROS	ix
CONTENIDO DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
SUMMARY	xii
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES	3
1.1. Aspectos generales de la tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	5
1.2. Biología reproductiva de la tilapia	6
1.2.1. Sexado poblacional de la tilapia del Nilo	7
1.3. Cultivo monosexo de la tilapia del Nilo	8
1.3.1. Técnicas utilizadas para lograr un cultivo monosexo de tilapia del Nilo.	8
1.3.2. Sexado manual	9
1.3.3. Hibridación Interespecífica	9
1.3.4. Reversión sexual (Inducción sexual)	9
1.3.5. Machos YY	9
1.4. Calidad espermática	10
1.4.1. Motilidad	10
1.4.2. Morfología	11
1.4.3. Concentración	13
1.4.4. Viabilidad espermática (integridad)	13
1.5. Métodos de análisis	14
1.6. Variables que afectan la calidad espermática	14
II. JUSTIFICACIÓN	16
III. HIPÓTESIS	17
IV. OBJETIVOS	18
4.1. Objetivo general	18
4.2. Objetivos específicos	18
V. MATERIALES Y MÉTODOS	19
5.1. Animales	19
5.2. Colecta de semen	19

5.3. Análisis microscópico	19
5.3.1. Concentración.....	19
5.3.2. Motilidad	20
5.3.3. Morfología.....	20
5.4. Análisis estadístico	20
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
6.1. Volumen, concentración.....	22
6.2 motilidad.....	23
6.3 Morfología.....	28
CONCLUSIONES	31
PERSPECTIVAS.....	32
REFERENCIAS	33

CONTENIDO DE CUADROS

No.		Pág.
Cuadro 1.	Investigaciones de importancia en el desarrollo de la tecnología YY <i>Oreochromis niloticus</i>	3
Cuadro 2.	Valores normales encontrados en evaluaciones para medir la infertilidad en machos.....	15
Cuadro 3.	Valores de volumen, concentración y motilidad masal de eyaculados en machos XY y YY de <i>Oreochromis niloticus</i>	22
Cuadro 4.	Parámetros de motilidad individual de espermatozoides de machos XY y YY de <i>Oreochromis niloticus</i>	25
Cuadro 5.	Índices de motilidad individual (en unidades arbitrarias, (Nuñez Martínez <i>et al.</i> , 2006) para las subpoblaciones de espermatozoides de machos XY y YY de <i>Oreochromis niloticus</i>	26
Cuadro 6.	Distribuciones de la población espermática en subpoblaciones de machos <i>Oreochromis niloticus</i>	27
Cuadro 7.	Parámetros de morfología individual en espermatozoides de machos XY y machos YY de <i>Oreochromis niloticus</i>	30

CONTENIDO DE FIGURAS

No.		Pág.
Figura 1.	Características morfológicas de la tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	6
Figura 2.	Diferencia urogenital entre macho (A) y hembra (B) de tilapia del Nilo	7
Figura 3.	Parámetros analizados por el módulo de Morfometría espermática en el sistema CASA.....	12

RESUMEN

En la región del Papaloapan, la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) es una especie de importancia comercial que en últimos años ha mostrado un crecimiento significativo en su cultivo de hasta en un 50 %. Sin embargo, la producción se está implementando a través de la utilización de hormonas para la generación de poblaciones de monosexo, lo que a su vez genera conflictos con el mercado y los grupos ambientales, lo que apunta a una reducción en el uso de sustancias sintéticas. Debido a esto, existe una búsqueda continua de tecnologías que permitan una cultura más amigable con el medio ambiente (manteniendo un equilibrio económico y social). La producción de machos YY (solo producen espermatozoides con un cromosoma Y) genera poblaciones de machos para su venta sin el uso de hormonas u otras sustancias activas. Sin embargo, solo unos pocos estudios han abordado las características seminales de los machos YY como reproductores. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las características espermáticas de los machos YY de tilapia del Nilo mediante parámetros que determinan la calidad espermática, como el volumen, la concentración, la motilidad y la morfología. Utilizamos 60 reproductores divididos en dos grupos: grupo 1 XY (n = 30), grupo 2 YY (n = 30), ambos grupos se mantuvieron en las mismas condiciones y régimen de alimentación. La concentración espermática y la motilidad se determinaron mediante dilución (semen / agua destilada) y se analizaron utilizando un sistema CASA. Los valores obtenidos para el volumen y la concentración espermática mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$), con los machos YY (0,8 mL, $3150,43 \times 10^6$ mill / mL) mostrando los valores más altos en comparación con los machos XY (0,4 mL, 750.78×10^6 mill / mL). No se observaron diferencias significativas en la motilidad espermática entre los grupos (machos XY = 65 % de los espermatozoides móviles, machos YY = 63 % de los espermatozoides móviles). La morfología registró diferencias significativas ($P < 0.05$) solo para el área de la cabeza, en los machos YY ($0.5 \mu\text{m}^2$) mostraron una diferencia significativamente mayor en comparación con la observada para los machos XY ($0.2 \mu\text{m}^2$). Los resultados obtenidos sugieren que las características seminales de los machos YY no se ven afectadas negativamente por el genotipo sexual, incluso presentan valores más altos de volumen y concentración espermática en comparación con los machos XY.

Palabras clave: Calidad espermática, Tilapia del Nilo, Macho YY.

SUMMARY

In the region of Papaloapan, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is a species of commercial importance that in later years has shown a significant growth in his culture up to 50 %. However, production is being implemented through the utilization of hormones for generation of monosex populations, this in turn generates conflict with the market and environmental groups, which points to a reduction in the use of synthetic substances. Due to this, there is a continuous search for technologies that allow a friendlier culture with the environment (maintaining an economic and social balance). The production of YY males (only produce spermatozoa with a Y chromosome) generates populations of males for sale without the use of hormones or other active substances. However, only a few studies have addressed the seminal characteristics of YY males as breeders. The objective of the present work was to evaluate Nile tilapia YY-males' spermatic characteristics through parameters that determine the spermatic quality such as volume, concentration, motility and morphology. We used 60 breeders divided in two groups: group 1 XY (n=30), group 2 YY (n=30), both groups were maintained under the same conditions and feeding regimen. Spermatic concentration and motility were determined under dilution (semen/distilled water) and analyzed using a CASA system. The values obtained for volume and spermatic concentration showed significant differences ($P < 0.05$), with the YY males (0,8 mL, 3150,43 x10⁶ mill/mL) showing the higher values in comparison to the XY males (0,4 mL, 750.78x10⁶ mill/mL). No significant differences were observed in spermatic motility between groups (XY males = 65 % of motile sperms, YY males = 63 % of motile sperms). Morphology registered significant differences ($P < 0.05$) only for head area, with the YY males (0.5 μm^2) showing the significantly higher in comparison to that observed for the XY males (0.2 μm^2). Results obtained suggest that seminal characteristics of YY males are not negatively affected by sexual genotype, even presenting higher values of volume and spermatic concentration compared to XY males.

Key words: Spermatic quality, Nile tilapia, Male YY.

INTRODUCCIÓN

México es un país que cuenta con un gran potencial para el desarrollo de la acuicultura, debido a que posee 12,500 km² en cuerpos de agua dividido entre costas, lagunas y esteros (SAGARPA, 2017). Sin embargo, esta actividad se ha establecido de manera reciente, por lo que actualmente se encuentra en etapa de desarrollo (Ramírez-López, 2015). Una de las especies acuícolas más importantes no solo para México sino a nivel mundial, es la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) debido a sus características biológicas y nutricionales.

El cultivo de la tilapia del Nilo ha tenido un crecimiento significativo, principalmente en el sur del país. Por lo cual existe una constante búsqueda de la optimización para un mejor aprovechamiento de dichos organismos (FAO, 2016). Sin embargo, la producción de esta especie ha sido limitada por diversos factores (como mantener condiciones adecuadas de hábitat, controlar el número poblacional en estanques para cultivo, obtener un aprovechamiento semejante de crías masculinas y femeninas en el sector económico) (Kubitza, 2009). Uno de los métodos más utilizados para incrementar la productividad de la especie es generar cultivos monosexo a un bajo costo. Esto se puede lograr utilizando machos reproductores con genotipo sexual YY, los cuales al ser cruzados con hembras normales (XX) producen una progenie constituida por 100 % de machos genéticos libres de hormonas (Mair *et al.*, 1997; Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014b).

Desde este punto de vista productivo, existe un consenso general sobre la ventaja de utilizar reproductores YY. Sin embargo, desde el punto de vista reproductivo, existe muy poca información sobre el desempeño de estos machos. Algunos productores con amplia experiencia sostienen que cuando se han utilizado machos YY como reproductores, se observa una menor cantidad de alevines producidos (comunicación personal). Por lo cual, la única manera de mantener un producto de calidad es mediante investigación que le permita conocer la ventaja y la debilidad que pueda tener dicha variante genética (Rodríguez-verdugo, 2012).

Los gametos, incluyendo los espermatozoides, pueden presentar daños celulares y moleculares por diversos factores intrínsecos durante la espermatogénesis, incluyendo las modificaciones cromosómicas (Martínez & Carrasco, 2010), como es el caso de los machos con dos cromosomas Y. debido a lo anterior, la evaluación espermática no solo permitirá elevar los niveles de supervivencia larval y garantizar una progenie deseada de cultivo, sino apoyar la reproducción en cautiverio (Montes-Montes, 2012) y en última instancia mejorar el manejo de reproductores YY. Algunos estudios previos ya han mostrado resultados prometedores, como es el caso de Salirrosas *et al.*, (2017), donde observaron que los reproductores YY muestran una mayor concentración espermática en comparación de reproductores XY de tilapia roja. Sin embargo, la falta de un estudio más profundo sobre los machos YY destinados a la reproducción, fomenta la poca comprensión y certeza del adecuado manejo de dichos reproductores. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es la evaluación de la calidad espermática bajo un sistema informático CASA, el cual permitirá reducir la subjetividad propia de este tipo de estudios y homogeneizar los criterios de calidad de los reproductores.

I. ANTECEDENTES

La producción de tilapia, en países tropicales y subtropicales, es por lo general de bajo costo en comparación de otras regiones, al contar con temperaturas favorables a su desarrollo (Rodríguez-verdugo, 2012). No obstante, su reproducción siempre ha sido un tema complicado, debido a las poblaciones mixtas de alevines que normalmente se presentan si no se aplica ningún tipo de mejoramiento genético, hasta la manipulación cromosómica de los mismos, lo cual permite al acuicultor la posibilidad de producir progenies genéticamente machos a través de reproductores YY. El cuadro 1 resume las investigaciones realizadas con respecto a la tecnología YY.

Cuadro 1. Antecedentes de importancia en el desarrollo de la tecnología YY

Autor	Tema	Resultados
Guerrero-Quiroz <i>et al.</i> , 2008	Análisis de la calidad seminal	<p>Especie: <i>Oreochromis spp.</i></p> <p>Mencionan la existencia de un porcentaje aceptable, sobre las anomalías en los espermias (10 %).</p> <p>Las anomalías más frecuentes fueron: la presencia de gotas citoplasmáticas en la cabeza y cuerpo del espermatozoide y un desprendimiento de flagelos.</p>
Nadirah <i>et al.</i> , 2010	Análisis de la calidad espermática	<p>Especie: <i>Oreochromis niloticus.</i></p> <p>Concluyen: que los espermatozoides se encuentran inmóviles en el plasma seminal y permanecen quiescentes.</p> <p>Evaluaron la actividad óptima a PH de 6.5 a 8.5 sobre la motilidad del esperma. Como resultado de</p>

Gennotte <i>et al.</i> , 2012	Influencia del genotipo sexual sobre la calidad espermática.	<p>esto, obtuvieron que el efecto del PH sobre la motilidad del espermatozoide es insignificante.</p> <p>Especie: <i>Oreochromis niloticus</i>.</p> <p>Concluyen: que el genotipo sexual, no afecta la calidad de espermatozoides en la tilapia del Nilo. Sin evaluar el nivel hormonal, los desplazamientos espermáticos y la evaluación a un mayor número de reproductores.</p>
Alcántar-Vázquez <i>et al.</i> , 2014 b	Evaluación de prole en machos feminizados (XY)	<p>Se menciona que la feminización se completa generalmente a nivel fisiológico, pero conservando parte de su morfología en el oviducto. Podría ser el resultado de bajos niveles de absorción hormonal o la interacción con variables ambientales, como la temperatura de crianza y un apreciable efecto parental para una alta producción de machos</p>
Salirrosas <i>et al.</i> , 2017	Evaluación de la calidad espermática en machos YY	<p>Lo reportado es un análisis entre la relación cromosómica de reproductores YY y una variación encontrada en algunas características como la concentración y movilidad espermática, comparado con la encontrada en reproductores XY.</p>

1.1. Aspectos generales de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Las características de la tilapia del Nilo son; un cuerpo comprimido con una cubierta de escamas cicloideas (redondeadas). Una profundidad del pedúnculo caudal similar a su longitud, con una protuberancia ausente en la superficie dorsal del hocico. Contiene en su primer arco branquial entre 27 y 33 filamentos branquiales. La aleta dorsal presenta combinaciones de espinas rígidas y blandas en forma continua de 16 o 17 espinas, con un número de 11 a 15 rayos (mostrando numerosas líneas negras). En el caso de la aleta anal, se presentan 3 espinas y entre 10 a 11 rayos. La aleta caudal se encuentra truncada y las aletas pectoral, dorsal y caudal adquieren una coloración rojiza en temporada de desove (Figura 1).

Tal como lo describen autores como Morales (1974), Basurto (2008) y manuales como el de Nicovita (2007), la tilapia del Nilo, presenta características que la hacen un candidato ideal para la acuicultura, entre las que se encuentran:

- a) Una alta adaptabilidad (condiciones ambientales).
- b) Fácil reproducción con alta resistencia a enfermedades.
- c) Alta productividad, al aceptar los diferentes tipos de alimentos (naturales como artificiales).
- d) Presentan tendencia omnívora (fitoplancton, plantas acuáticas, pequeños invertebrados, fauna bentónica, desechos y capas bacterianas asociadas al detritus).
- e) Es una especie que vive preferentemente en aguas someras dentro de un rango de temperaturas (20 a 35 °C).
- f) La tilapia del Nilo llega a vivir más de 10 años y alcanzar un peso de 5 kg.

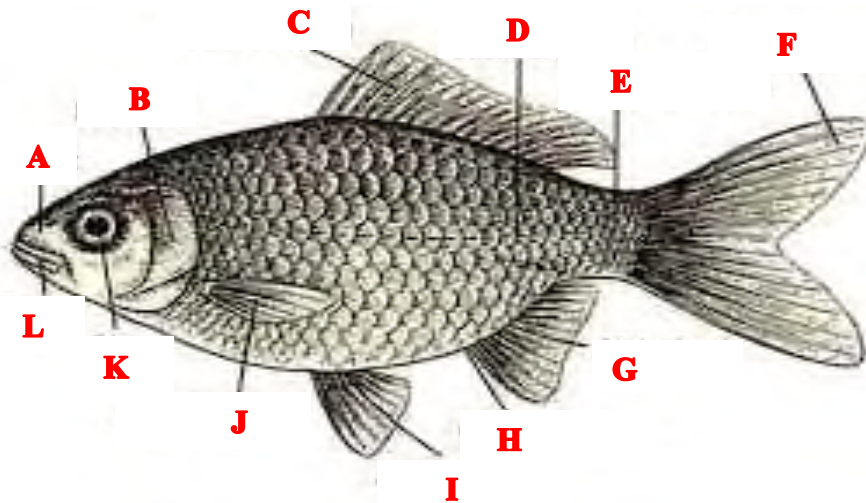


Figura 1. Características morfológicas de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*); A: nariz, B: branquias, C: aleta dorsal, D: línea lateral, E: péndulo caudal, F: aleta caudal, G: aleta anal, H: orificio anal, I: aleta ventral, J: aleta pectoral, K: ojo y L: boca.

1.2. Biología reproductiva de la tilapia

El proceso reproductivo de la tilapia del Nilo es asincrónico, lo cual significa que puede desovar a lo largo del año si no se presenta una temporada fría que inhiba el desove. Generalmente la etapa reproductiva inicia cuando el macho establece un territorio, marca un nido a manera de cráter y vigila su territorio ahuyentando a cualquier posible competidor; el tamaño de los nidos parece estar en función de la talla y la cercanía de los nidos, lo cual permite que cada ocupante pueda ver a sus vecinos sobre guardando sus nidos (Baltazar *et al.*, 2007).

La hembra madura desova sobre el nido (la temperatura mínima para iniciar el desove es de 24°C) y después de la fertilización por parte del macho, la hembra recoge los huevos con la boca y se retira. La hembra incuba los huevos en la boca y cría a los alevines hasta que se absorbe el saco vitelino. Mientras dura la incubación la hembra come muy poco o bien nada. Una hembra de 200 g desovará aproximadamente 200 huevos, en tanto que una hembra de 500 g desovará 500 huevos (Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014a).

Una ventaja importante que ofrece la tilapia del Nilo a la producción es su pronta madurez sexual, que también puede representar una desventaja sobre la tasa de crecimiento (Gómez *et al.*, 2003). Pueden alcanzar esta madurez de los 2 a los 4 meses de edad (Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014a), es decir, mucho antes de la talla comercial (6 meses de edad), lo cual complica su manejo bajo cultivo.

1.2.1. Sexado poblacional de la tilapia del Nilo

Las hembras pueden alcanzar su madurez sexual entre los 20 y 40 gr (figura 2) según lo menciona Alvarado-Ruiz (2015); sin embargo, se menciona que otros autores consideran que la madurez sexual se presenta a pesos mayores entre los 80 y 100 gr, lo que corresponde a una edad entre 5 y 6 meses.

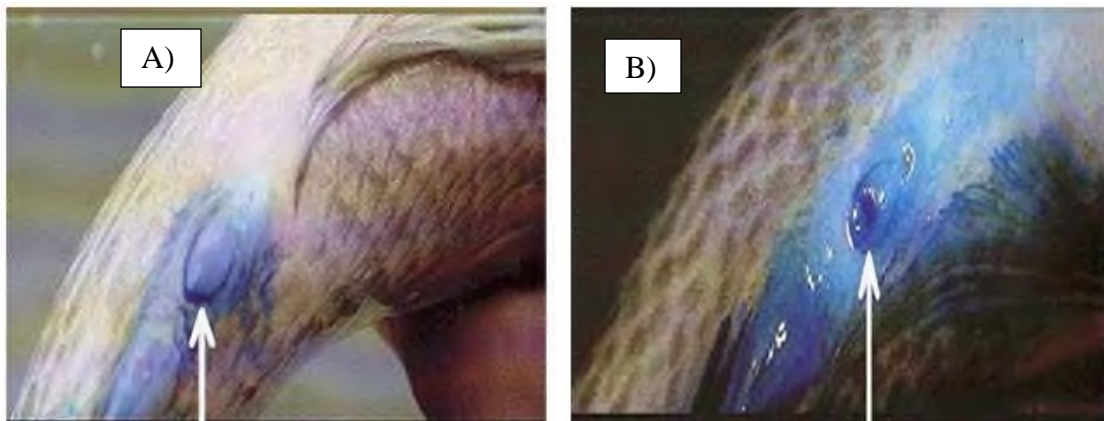


Figura 2. Diferencia urogenital entre el macho (A) y la hembra (B) de la tilapia del Nilo expuesta por Alvarado-Ruiz (2015).

Por lo general, la tilapia del Nilo produce poblaciones compuestas en un 50 % por machos y un 50 % por hembras, sin embargo, existen algunas condiciones particulares como la edad de maduración sexual y la mortalidad de los individuos que, podrían causar que la proporción sexual sufra un desbalance (Gjedrem, 2005).

Los machos tienen un crecimiento mayor que las hembras debido a que estos utilizan la energía extraída del alimento en su crecimiento somático, mientras que las hembras la

utilizan en la producción de gametos para desove, como lo menciona Alvarado-Ruiz (2015), por lo tanto, las hembras requieren un mayor gasto energético durante la reproducción lo que conduce a una disminución de la tasa de crecimiento (Nicovita, 2007; Tsang, 2008; SAGARPA, 2011).

1.3. Cultivo monosexo de la tilapia del Nilo

El cultivo monosexo, es una técnica encaminada al cultivo de organismos de un solo sexo en una especie en particular, con el fin de evitar la reproducción incontrolada o para aumentar la producción (Marín-Ramírez, 2014). Adicionalmente, este tipo de cultivo ayuda a eliminar la presencia de tallas heterogéneas, de acuerdo a lo mencionado por Alvarado-Ruiz (2015). En el caso de la tilapia del Nilo, se utiliza el cultivo monosexo exclusivo de machos, dicha preferencia esta en relación a la diferencia marcada en las tasas de crecimiento entre ambos sexos (Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014b).

1.3.1. Técnicas utilizadas para lograr un cultivo monosexo de tilapia del Nilo.

Actualmente se han desarrollado varias técnicas que permiten conseguir una población de monosexo de tilapia del Nilo, tales como:

- a) Sexado manual (Bocek, 2003).
- b) Hibridación interespecífica (Alvarado-Ruiz, 2015).
- c) Reversión sexual (Inducción sexual) (Alvarado-Ruiz, 2015), Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014a).
- d) Tilapia genéticamente macho (TGM) o progenie de machos YY (Mair *et al.*, 1997; Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014a).

1.3.2. Sexado manual

El sexado manual es una técnica básica, consiste en separar machos y hembras basándose en la forma de la papila genital. Por lo general este método tiene una eficacia del 85 %. Entre los inconvenientes, se encuentra la necesidad de un ojo entrenado, un incremento de personal capacitado y el consumo de tiempo (Bocek, 2003).

1.3.3. Hibridación Interespecífica

El resultado de esta técnica es una cruce entre especies de tilapia para obtener solo machos, donde un ejemplo claro es una cruce de machos *O. aureus* (cromosomas ZZ), con hembras *O. niloticus* (cromosomas XX). Este tipo de cruces producen progenies con un elevado número de machos, lo cual ayuda reduciendo la posibilidad de reproducción indeseada (Alvarado-Ruiz, 2015).

1.3.4. Reversión sexual (Inducción sexual)

La reversión sexual consiste en el suministro de alimento con andrógenos (17α metiltestosterona) a poblaciones de alevines sexualmente indiferenciados, esto causa que las hembras manifiesten un morfotipo de macho, mejorando el desempeño productivo (Alvarado-Ruiz, 2015). Sin embargo, la utilización de hormonas es un tema muy controvertido, ya que existe una creciente preocupación por la acumulación de hormonas naturales y sintéticas inmersas para obtener la calidad de los productos (Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014a).

1.3.5. Machos YY

La técnica consiste en suministro de estrógenos (17β -estradiol, etinilestradiol y dietilestilbestrol) a alevines indiferenciados sexualmente, lo cual producirá hembras revertidas (XY) o machos feminizados; estas serán cruzadas con machos normales (XY) produciendo un 50 % machos normales (XY), un 25 % hembras normales (XX) y un 25 %

de machos YY; estos últimos, son los encargados de producir la nueva progenie compuesta por un 100 % de machos naturales al cruzarse con hembras normales (XX) (Mair *et al.*, 1997; Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014a).

1.4. Calidad espermática

Desde un punto de vista biológico, la calidad espermática es la habilidad que tiene un espermatozoide para lograr fertilizar al gameto femenino. Los parámetros que permiten medir la calidad espermática son: motilidad, morfología, concentración, viabilidad y/o integridad de ADN (Martínez y Carrasco, 2010).

1.4.1. Motilidad

La motilidad es una evaluación de las clases en términos de porcentaje de espermatozoides en movimiento progresivo o nulo de los espermatozoides individualmente (Fauvel *et al.*, 2010). Depende principalmente de las reservas de ATP endógeno, el cual se encuentra presente antes de la activación de reacciones enzimáticas, las cuales se llevan a cabo para la degradación de las moléculas grandes tales como: los polisacáridos, lípidos y proteínas durante el proceso de producción de energía (Rurangwa *et al.*, 2002).

La importancia de un sistema especializado como lo es el CASA, radica en la capacidad como herramienta de captura del desplazamiento espermático, es decir, un registro del comportamiento que de manera tradicional resultaría inverosímil realizarlo. Para comprender mejor el desplazamiento espermático, se deben considerar valores para medirlo, a continuación, se mencionan (Proiser, 2017).

Velocidad curvilínea (VCL): Es la distancia total recorrida por la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria en tiempo ($\mu\text{m} / \text{s}$).

Velocidad rectilínea (VSL): Se determina a partir de la distancia en línea recta entre el primer y último punto de su trayectoria, se aprecia observando el espacio recorrido, se expresa en tiempo ($\mu\text{m} / \text{s}$).

Velocidad media (**VAP**): es la distancia recorrida por el espermatozoide a lo largo de la trayectoria media de circulación en el periodo de observación.

Índice de linealidad (**LIN**): Es la relación porcentual entre la velocidad rectilínea y la velocidad curvilínea ($LIN = (VSL / VCL) \times 100$).

Índice de rectitud (**STR**): es la relación porcentual entre la velocidad rectilínea y la velocidad media ($STR = (VSL / VAP) \times 100$).

Índice de oscilación (**WOB**): es la relación porcentual entre la velocidad media y la velocidad rectilínea.

Los espermatozoides estáticos no necesariamente están muertos, pero no pueden fertilizar de manera natural en su medio ambiente. También es importante reconocer que la aglutinación puede interferir la medición de la movilidad (Lo Nostro, 2000).

1.4.2. Morfología

Los espermatozoides son células aisladas que están sujetas a entornos variables desde los testículos hasta el proceso de la fertilización en el medio en el cual sean liberados. Además, pueden ser dañados por xenobióticos, alterados por una mutación genética o el mismo envejecimiento y, por último, pueden ser parcialmente degradados por protocolos de conservación (Fauvel *et al.*, 2010). Hasta la fecha, se ha demostrado que los espermatozoides morfológicamente normales nadan más rápido, realizan un recorrido lineal y por supuesto cuentan con una mayor frecuencia de golpe flagelar, por el contrario, toda alteración o anomalía son causantes de baja fertilidad. Se pueden encontrar anomalías de cabeza, flagelo o metabólica en el mecanismo de producción y transducción de la energía dentro de la célula (Gimeno-Miquel, 2014).

Dado que la existencia de una relación entre la morfología espermática y la fertilidad es difícil de interpretar, no es del todo correcto presentar resultados globales con espermatozoides normales y anormales. Es decir, la teratozoospermia es el número elevado de espermatozoides con forma anormal y es causa de infertilidad, pero se puede presentar por diversos trastornos tales como los mencionados por Lo Nostro (2000):

- **Varicocele** (agrandamiento de las venas dentro de la piel floja que sostiene los testículos (escroto))
- **Sepsis seminal** (respuesta por infección)
- **Estrés**
- **Exposición a agentes externos nocivos**

A continuación en la figura 3, se muestran algunos parámetros tomados en cuenta en el análisis morfológico. Estas mismas alteraciones morfológicas en teoría, son heredadas genéticamente o por un hecho desconocido, incluso antes de ser activada la madurez y puede afectar a futuro el proceso de espermatogénesis (Vasquez y Vasquez, 2012), por lo cual su presencia no es suficiente para establecer un diagnóstico causal.

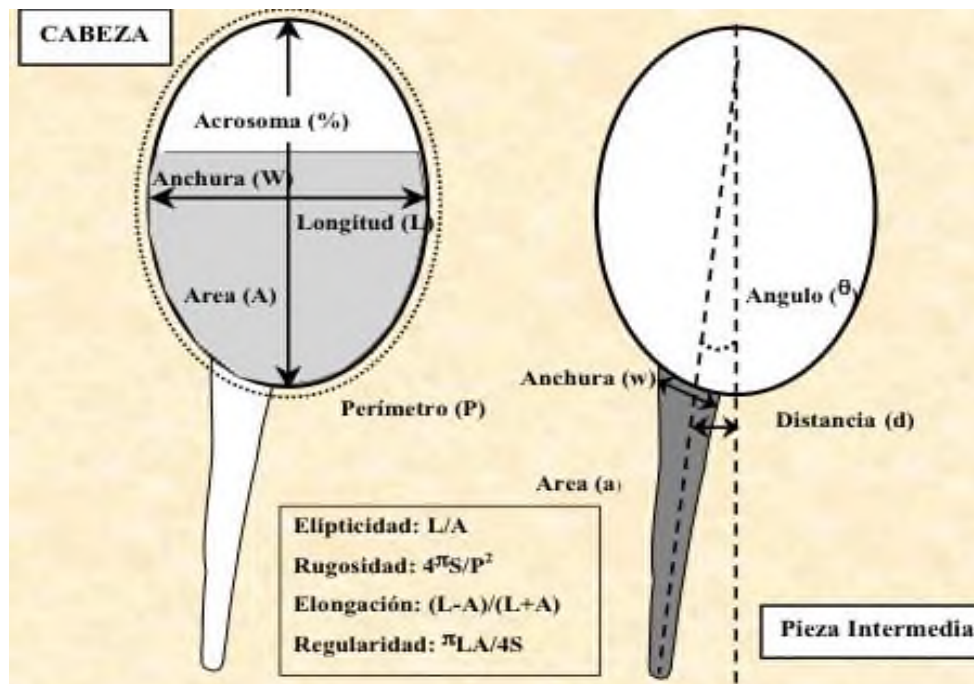


Figura 3. Parámetros analizados por el módulo de morfometría (Proiser, 2017).

1.4.3. Concentración

El conteo espermático en peces se realiza bajo diluciones de semen (espermatozoides / agua destilada) usada en todas las especies estudiadas y ajustada a la especie en cuestión (Fauvel *et al.*, 2010). El método estándar en peces (espermas / mililitros), es un conteo de espermatozoides que generalmente se lleva a cabo usando un hemocitómetro (camara Neubauer) (Rurangwa *et al.*, 2003) con el fin de obtener un número por macho donador, este número indica un promedio aproximado de células espermáticas producidas por dicho macho en el proceso de espermatogénesis.

En esta investigación este valor se obtuvo con ayuda del sistema CASA que analiza un número indefinido de campos y células. Realiza cálculos en tiempo real y la concentración se muestra en millones / mililitro. Sin embargo, el reporte final se realiza después de un proceso de depuración realizado por el investigador a cargo.

1.4.4. Viabilidad espermática (integridad)

Es importante evaluar el daño en el ADN que potencialmente sería transmitido a la siguiente generación. En los últimos años se han usado varias técnicas para detectar diferentes tipos de daño del ADN. Los diferentes marcadores de ADN como el bromuro de etidio pueden utilizarse para mostrar los anuncios del fraccionamiento (entre más lesiones presente el material genético, indicará una menor integridad de este y menor será la posibilidad del proceso embrionario a término). Otros métodos de la integridad del ADN son los estudios tales como el "TUNEL" y "CASA", pero no ha sido ampliamente utilizado en estudios de esperma de peces hasta el momento (Fauvel *et al.*, 2010). Las causas de la aparición de un porcentaje significativo de espermatozoides dañados y las consecuencias sobre la fertilidad, es un tema digno de estudio

La viabilidad es un valor que indica el porcentaje de espermatozoides que pueden realizar el proceso de fecundación con éxito (independientemente de si estos tienen la capacidad motora para realizarlo de manera natural). Este valor se determina con espermas inmóviles, los

cuales, bajo una observación se contabilizan los vivos de los muertos. La separación de estos se hace con ayuda de una tinción (de Eosina), para que al paso de unos minutos se puedan tomar las capturas en el microscopio (Salirrosas *et al.*, 2017). Con el uso de las técnicas de reproducción asistida como el ICSI (por sus siglas en ingles), se ha comprobado que incluso espermatozoides morfológicamente anormales pueden producir fetos totalmente normales (Vasquez y Vasquez, 2012).

1.5. Métodos de análisis

El sistema CASA, contiene diferentes módulos de análisis, cada uno de estos, está diseñado para evaluar y analizar cada variable mencionada (motilidad, concentración, morfología y viabilidad), cuenta con un ocular de campo claro de 10x, 20x o 100 x, el cual permite seleccionar la especie, el aumento, incluso la temperatura de análisis. Se pueden realizar capturas automáticas o manuales. La visión individualizada de la imagen original y la máscara de análisis, junto con los resultados. Estos sistemas son especialmente diseñados para programas de control de calidad y con capacidad de diseño de matrices de clasificación específicas (Proiser, 2017; Fauvel *et al.*, 2010; Rurangwa *et al.*, 2003).

1.6. Variables que afectan la calidad espermática

Como se mencionó en apartados anteriores, hay diferentes causas para una calidad seminal baja o nula. El efecto de la temperatura sobre la velocidad y letargo de los espermias, misma que a su vez, es proporcional al tiempo con el que un espermia puede lograr durar con su vitalidad reduciendo su oportunidad de realizar la fecundación. En el caso del PH, que es un balance entre las diferentes secreciones, algunos autores no consideran el PH como un regulador primario (Nadirah *et al.*, 2010), pero que si tiene su importancia para efectos de activación espermática, el PH adecuado esta entre 6.5 y 8.5 (normalmente 7.2) y valores fuera de rango inhiben el movimiento (Tabares *et al.*, 2005).

Los indicadores para evaluar la calidad seminal no son siempre fiables, es decir, reportes de la OMS (Organización Mundial de la Salud) indica que existen problemas de infertilidad por

“causas no demostrables” (aun cuando sus pruebas base muestren normalidad). Lo que indica la presencia de otros parámetros que permitan definir de manera más detallada la capacidad de fertilización de los espermatozoides.

Algunos investigadores recomiendan una clasificación más descriptiva para las alteraciones, que permitan uniformidad y eviten confusiones al lector inexperto, tal como se muestra en el siguiente cuadro 2, donde se encuentran algunos criterios de normalidad al examinar la calidad espermática. Desde luego las irregularidades al analizar dichos parámetros son en promedio las mencionadas y recomendadas por la literatura pero están sujetas a la interpretación y experiencia del investigador a cargo (Triana *et al.*, 2016).

Cuadro 2. Valores normales encontrados en evaluaciones para medir la infertilidad

Indicadores	parámetros normales
pH del semen	7.2 – 8.0
Movilidad lineal progresiva (a + b)	50 %
Movilidad lineal rápida (a)	25 %
Morfología normal	50 %
Viabilidad	50 %
Anormalidad	4 %

Astenozoospermia: Menos del 50 % de espermatozoides con progresión lineal (movilidad a+b) o menos del 25 % con progresión rápida (movilidad a). *Teratozoospermia*: Menos del 50 % de espermatozoides con morfología normal. *Azoospermia*: Ausencia de espermatozoides en el eyaculado (Padrón *et al.*, 1999; Triana *et al.*, 2016;).

II. JUSTIFICACIÓN

La región del Papaloapan es una de las zonas con mayor potencial de crecimiento para el cultivo de la tilapia del Nilo. Reportes de CONAPESCA (2016) muestran un crecimiento de la producción en aproximadamente un 50 %. Las características biológicas de la tilapia y las condiciones climáticas de esta región favorecen su cultivo a niveles que pocas regiones en nuestro país pueden ofrecer. Lo anterior, sumado al aumento de su consumo tanto en los mercados nacionales como internacionales, genera un gran potencial de desarrollo para esta zona. Debido a esto, es primordial que dentro de la región se desarrollen tecnologías que permitan un cultivo más sustentable (manteniendo el balance económico, social y ambiental), como es la implementación de la tecnología de los machos YY.

La reproducción con machos YY, permite producir poblaciones de machos libres de hormonas, manteniendo los beneficios del cultivo monosexo. Sin embargo, dentro de la acuicultura la calidad de los reproductores se mide por la calidad de sus gametos y aunque en la tilapia del Nilo existen diversos reportes para machos XY (normales), esto no ocurre para los machos YY. Por ejemplo, los efectos de la alteración del genotipo parental (dos cromosomas Y) sobre la calidad espermática aún no han sido estudiadas a detalle, por lo tanto, este tipo de estudio cobra especial importancia ya que de la calidad de los gametos en machos XY se sabe que cuentan con características que permiten mantener una tasa de producción estable (bajo las condiciones deseadas), mientras que la reproducción con machos YY todavía no cuenta con registros adecuados y dependerá en gran medida de ello para lograr el establecimiento de la tecnología YY en nuestra región.

III. HIPÓTESIS

El genotipo sexual de machos reproductores de *Oreochromis niloticus*, no afecta las características seminales macroscópicas y microscópicas que determinan la calidad reproductora de los mismos.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar las características espermáticas de machos YY de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*

4.2. Objetivos específicos

- Determinar las características macroscópicas y microscópicas de los eyaculados de los machos YY de *Oreochromis niloticus*.
- Evaluar la vitalidad y morfología de los espermatozoides de machos YY de *Oreochromis niloticus*.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Animales

Se utilizaron 60 machos reproductores de aproximadamente 12 meses de edad y un peso aproximado de 800 (± 0.2 gr), pertenecientes a la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita. La selección de reproductores se realizó siguiendo el manual establecido por Alcántar-Vázquez *et al.* (2014a), los cuales fueron distribuidos en función de sus características genéticas en dos grupos: machos YY (n=30) y machos XY (n=30).

5.2. Colecta de semen

Previo a la colecta, los machos fueron anestesiados con 2-fenoxietanol (5 mL en 16 L de agua), el área de la papila genital se limpió con agua destilada, se colocó un paño húmedo sobre la cabeza del animal (para reducir el estrés). El semen se obtuvo mediante la técnica descrita por Abascal *et al.* (2007). Este proceso se realizó de manera repetitiva hasta obtener la mayor cantidad posible de eyaculado de cada macho.

5.3. Análisis microscópico

5.3.1. Concentración

La concentración espermática se realizó en una dilución de 1 / 250 μ L (eyaculado / agua destilada respectivamente). Se colocaron 8 μ L de la dilución en la cámara de Neubauer y se dejó reposar durante 5 min, transcurrido este tiempo se observaron en el sistema CASA bajo el objetivo 20X, se capturaron 4 campos con un número indefinido de células (Rurangwa *et al.*, 2003).

5.3.2. Motilidad

Se realizó una activación mediante una dilución de 1:2 (semen: agua destilada respectivamente). Se colocaron 5 µl de semen en un portaobjetos para su observación en una platina atemperada a 31 °C con objetivo 20 X, se capturaron 4 campos para medir cuantitativamente la movilidad de los espermatozoides de peces (Rurangwa *et al.*, 2002).

5.3.3. Morfología

De cada eyaculado, se realizó una dilución 1:50 (semen y solución alcohólica, respectivamente) y homogenizada en un agitador por 1 min, se colocaron 5 µL de dilución en un portaobjeto a través de un barrido de la gota a un ángulo de 45° aproximadamente, para terminar este proceso las muestras se dejaron secar por 24 h a temperatura ambiente.

Posterior a las 24 h, los frotis fueron teñidos mediante un kit de tinción (tinción para frotis sanguíneo). De acuerdo a las instrucciones del proveedor, la primera fue el colorante rojo (hemocolorante 1) por 10 min, la segunda fue para el colorante azul (hemocolorante 2) por 5 min. El sistema CASA (bajo la configuración de esta tinción) determino por la diferencia de los tipos normales y anormales un análisis citomorfológico. Esta se realizó bajo el objetivo 40 X con un total de 100 espermatozoides capturados (por muestra).

5.4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza del 95 % y se aplicó un análisis *a posteriori* de Tukey. Para determinar las subpoblaciones espermáticas, las ocho variables obtenidas de motilidad mediante el CASA de cada uno de los 13,782 espermatozoides obtenidos, fueron analizados como describe Núñez Martínez *et al.*, (2006).

De manera general, se usó la técnica multivariante de conglomerados en dos fases (two step cluster) mediante los índices aplicados a los valores de parámetros de espermatozoides individuales y valores obtenidos por la aplicación de los índices, los clasifica utilizando el tratamiento como variable categórica. Los datos fueron analizados con el software SPSS 22.0.0.0 (SPSS for Windows, versión 22 IBM Corp).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Volumen, concentración.

En el Cuadro 3 se muestran los valores de volumen, concentración y motilidad. El volumen de eyaculado de los machos YY fue significativamente ($P < 0.05$) mayor en comparación con los eyaculados obtenidos de machos XY. Del mismo modo, el número total de espermatozoides contabilizados fue significativamente ($P < 0.05$) mayor en machos YY en comparación con los machos XY.

Cuadro 3. Valores de volumen, concentración y motilidad masal de eyaculados de machos XY y YY de *Oreochromis niloticus*.

Tratamiento	Parámetros		
	Volumen (mL)	Concentración (esp/mL)	Motilidad masal (%)
Machos XY	0.470 ± 0.306 b	750.78x10 ⁶ ± 539.37 b	64.71 ± 10.71
Machos YY	0.875 ± 0.546 a	3150.43x10 ⁶ ± 1324.95 a	63.05 ± 7.30

a,b: Literales entre columnas indican diferencia significativa.

Los resultados obtenidos en volumen y concentración del presente estudio son similares a los reportados por Salirrosas *et al.*, (2015), quienes reportan valores para volumen (0.4 mL) y concentración espermática (4x10⁹ esp / mL) mayores en machos YY de la variedad roja de la especie *Oreochromis niloticus*. En comparación a machos normales (0.5 mL y 1x10⁹ esp / mL respectivamente). Dichos autores mencionan además, que no existe una relación entre el peso vivo del individuo con el volumen y la concentración encontrada en los reproductores.

En este sentido, Guerrero-Quiroz *et al.*, (2008), mencionan un mayor volumen y concentración espermática para los machos XY con tallas y pesos mayores. Esto es debido a que existe una relación significativa entre el número de espermatozoides por mililitro y el tiempo que tardan estos en movimiento, lo que significa que entre mayor concentración de espermatozoides existan en el eyaculado, la motilidad se afecta negativamente (Guerrero-Quiroz *et al.*, 2008).

Diversos estudios realizados en mamíferos (incluido humanos) demuestran que una variación de la espermatogénesis, que es afectada por la función endocrina del testículo y las glándulas sexuales accesorias, afectando la capacidad fecundante de los espermatozoides (Maza-Gamboa *et al.*, 2015). Por su parte, Alcántar-Vázquez *et al.* (2014b) describe las variaciones encontradas en los machos revertidos (utilizados para producir machos YY) en el área de papila genital, como resultado del proceso de hormonado y que pueden presentarse en generaciones de alevines futuras ya sea por el estado nutricional o interacciones genéticas.

6.2 motilidad

La motilidad espermática de machos YY y XY no mostro diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) (Cuadro 3). En ambos grupos fue superior al 60 %, esto indica que los espermatozoides presentan un correcto estímulo para activar su funcionamiento, mismo que les permite, iniciar el proceso de fertilización adecuado (Tabares *et al.*, 2005). Los resultados en el presente son similares a los presentados por Salirrosas *et al.*, (2017), quien reporta valores del 60 % para ambos tipos de reproductores, indicando que la motilidad espermática es normal cuando presenta valores superiores al 50 %.

En el Cuadro 4 se presentan los parámetros de motilidad analizados, los cuales se conformaron por parámetros de desplazamiento (VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH y BF), permitiendo apreciar de manera específica los desplazamientos y velocidades medias. El análisis reveló en la comparativa, que los espermatozoides de machos XY poseen cifras de velocidad (en tiempo μ/s) significativamente superiores ($P > 0.001$) que la media registrada en machos YY. Las variables VCL, VSL y VAP son frecuentemente considerados

indicadores de calidad espermática (Nuñez Martínez *et al.*, 2006), ya que existe una correlación entre la calidad seminal y fertilidad cuando las velocidades de desplazamiento espermático son más altas (Holt *et al* 1997; Geyter *et al.*, 1998; Larsen *et al.*, 2000).

Los parámetros del desplazamiento presentaron valores significativamente ($P > 0.001$) más altos para los índices de linealidad y rectitud (LIN y STR) en espermatozoides provenientes de machos YY en comparación a los obtenidos en machos XY (31.5 y 57.3 respectivamente), pero con un porcentaje en el índice de oscilación (WOB) y amplitud de media del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH en μ) a favor de los espermatozoides de machos XY. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.001$) en la frecuencia de batido de cola (BF) tal como se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 4. Parámetros de motilidad individual de espermatozoides de machos XY y machos YY de *Oreochromis niloticus*

Tratamientos	Parámetros							
	VCL (μ /S)	VSL (μ /S)	VAP (μ /S)	LIN (%)	STR (%)	WOB (%)	ALH (μ)	BF (Hz)
Machos XY (n=7652)	65.7 \pm 49.5	18.9 \pm 17.4	29.8 \pm 21.8	31.5 \pm 24.2	57.3 \pm 32.4	54.2 \pm 19.5	3.1 \pm 2.2	3.7 \pm 2.1
Machos YY (n=6130)	56.9 \pm 42.2	19.7 \pm 20.3	28.3 \pm 23.0	39.0 \pm 24.9	65.4 \pm 27.9	46.0 \pm 23.1	2.9 \pm 2.1	3.8 \pm 2.6
Significancia	**		**	**	**	**	**	**

VCL= velocidad curvilínea, **VSL**= velocidad rectilínea, **VAP**= velocidad promedio, **LIN**= índice de linealidad, **STR**= índice de rectitud, **WOB**= índice de oscilación, **ALH**= amplitud de media del desplazamiento lateral de la cabeza y **BF**= frecuencia de batido de la cola.

** $P > 0.001$.

La velocidad inferior puede ser perjudicial para los espermatozoides dado que el micrópilo de la ova se mantiene abierto por un corto tiempo, por lo tanto es importante que los reproductores presenten espermatozoides con velocidades adecuadas de desplazamiento de lo contrario podría reducir la posibilidad de alcanzar una tasa óptima constante de reproducción (Tabares *et al.*, 2005).

Los resultados del análisis de componentes principales en parámetros de velocidad mostraron cuatro subpoblaciones espermáticas mediante el método de agrupación en el programa SPSS (Two Step Clustering). El Cuadro 5 presenta los índices de velocidad espermática (incluyendo ALH) e índice de motilidad espermática (SVI é SMI por sus siglas en inglés), dando como resultado mayores valores índices pertenecientes a la subpoblación 2 y 3, los menores índices para las subpoblaciones 1 y 4.

Cuadro 5. Índices de motilidad individual en unidades arbitrarias, (Nuñez Martínez *et al.*, 2006) (Media ± Desviación Estándar) para las subpoblaciones de espermatozoides de machos XY y machos YY de *Oreochromis niloticus*.

Subpoblaciones	Índice de velocidad	Índice de movimiento
	Media ± DE	Media ± DE
1	0.031 ± 0.101	6.3 ± 16.7
2	1.041 ± 0.461	99.4 ± 44.3
3	1.098 ± 0.444	86.8 ± 35.1
4	0.026 ± 0.931	5.31 ± 15.4
Combinados	0.693 ± 0.619	62.1 ± 65.0

La manera en que se distribuyen las cuatro subpoblaciones se origina de las características morfológicas de cabeza y pieza media del espermatozoide (Núñez Martínez *et al.*, 2006).

Las subpoblaciones espermáticas mostraron un mayor porcentaje de motilidad para los eyaculados pertenecientes a los machos XY como se puede apreciar en el cuadro 6. Las subpoblaciones tienen estructuras diferentes, los espermatozoides de los reproductores YY tienen frecuencias de batido en la subpoblación 3 y 4 y en los reproductores XY fue la 1 y 2, el mayor porcentaje con el índice de espermatozoides motiles se encontró en una subpoblación de los eyaculados de machos YY (subpoblación 3, 65.3 %) que en el eyaculado de reproductores XY (subpoblación 1, 37.1 %).

Cuadro 6. Distribuciones de la población espermática en sub-poblaciones de machos XY y YY de *Oreochromis niloticus*.

Subpoblaciones	Tratamientos			
	Machos XY		Machos YY	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
1	2839	37.1	0	0
2	4813	62.9	0	0
3	0	0	4005	65.3
4	0	0	2125	34.7
combinados	7652	100	6130	100

No existe evidencia de una relación directa entre el porcentaje de espermatozoides móviles y la fertilidad potencial de un individuo. Sin embargo la falta de una movilidad progresiva rápida como la encontrada en machos YY, puede deberse a un efecto aislado o ser un acompañamiento de alteraciones en la concentración (aun con la morfología normal), en este sentido puede indicar un daño global en la espermatogénesis (Padrón *et al.*, 1999). La motilidad puede estar condicionada por factores como la temperatura tendiente al frío (esto justificaría la respuesta de variación), pero también afectaría el desempeño de espermatozoides pertenecientes a machos XY. Otra posible explicación son las afectaciones mitocondriales por mal congénito o adquirido.

Dado que la disminución de la movilidad espermática tiene múltiples y difíciles causas de diagnosticar, por un simple análisis comúnmente no es posible establecer un pronóstico mediante el mismo.

6.3 Morfología

Se analizaron los parámetros morfométricos de 3000 espermatozoides (Cuadro 7). La morfología de la cabeza de los espermatozoides muestra diferencias significativas ($P > 0.05$), un mayor tamaño de cabeza para espermatozoides de machos YY (largo / ancho), en comparación con los machos XY que presentan medidas inferiores para dichas características. En cuanto al área y perímetro de los espermatozoides muestran diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) entre los espermatozoides de ambos grupos.

Los valores obtenidos en el presente estudio son similares a los reportados para machos YY por autores como Salirrosas *et al.*, (2015), donde se menciona que el tamaño encontrado es de 7 μm , en cambio para machos XY el valor obtenido fue de 2 μm . Tabares *et al.*, (2005), indican que lo normal está en el rango de 2 a 4 μm por lo que los espermatozoides en machos XY están ligeramente por encima del valor normal, mientras que los espermatozoides pertenecientes a machos YY se encuentran en un rango mayor.

Los valores de: elipticidad, elongación, rugosidad y regularidad, tal no mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ambos grupos. Estos parámetros describen la cabeza espermática, lo que significa que se conserva la misma forma incluso cuando el promedio de la talla cambia. Esta característica no debería representar un problema relacionado a la infertilidad (Salirrosas *et al.*, 2017). Sin embargo, las anomalías en la forma de la cabeza pueden ocasionar esterilidad, pero la proporción de espermatozoides con cabeza (tipo redonda, pera, alfiler) pueden ocasionar esterilidad, cuando se presentan porcentajes superiores al 80 % en el eyaculado (Padrón *et al.*, 1999).

Dichas anormalidades pueden ser. Las cuales causadas por estrés, altas temperaturas y una etapa temprana en los machos reproductores (Vasquez y Vazquez, 2012).

El valor promedio presentado en machos XY puede ser tomado como normal, pues existe presencia de más del 50 % de espermias morfológicamente normales, en la literatura existen reportes (incluyendo en humanos) que toman como normales valores de hasta 14 % (Padrón *et al.*, 1999).

Cuadro 7. Parámetros de morfología individual en espermatozoides de machos XY y machos YY de *Oreochromis niloticus*

Tratamiento	Cabeza de los espermatozoides						
	Longitud (μm)	Ancho (μm)	Área μm^2	Perímetro (μm)	Elipticidad	Elongación	Rugosidad
Machos XY (n=1500)	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	1.5 ± 0.3	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1
Machos YY (n=1500)	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.2	2.4 ± 0.6	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1

SIGNIFICANCIA

** ** ** **

Longitud= máxima longitud de la cabeza, Anchura= mínima longitud de la cabeza, Área= superficie dentro del perímetro de la cabeza, perímetro= Delimitación de la cabeza, Elipticidad= se emplea para describir la forma elíptica de un objeto, partiendo de 1 para una forma circular y a mayor numero para una elipse, Elongación= describe el alargamiento de un objeto, parte de 0 para un circulo y a mayor numero para una forma más alargada, Rugosidad= describe el grado de circularidad de un objeto, partiendo desde 1 para un circulo perfecto y 0 cuando es una línea.

** $P < 0.05$

CONCLUSIONES

Las características seminales de los machos reproductores YY de *Oreochromis niloticus*, no se ven afectadas de manera negativa por el genotipo sexual, ya que presentan mayores valores en cuanto volumen y concentración en comparación con machos normales.

Los parámetros de motilidad individual y composición de las subpoblaciones espermáticas en machos YY muestran tener menor motilidad.

La cabeza de los espermatozoides YY presenta mayor tamaño que los espermatozoides de machos XY, factor que pudiera influir en los patrones de motilidad. Sin embargo, los porcentajes de normalidades se encuentran dentro de los valores normales.

PERSPECTIVAS

Debido a las características y resultados obtenidos, es necesario reconsiderar los días de reposo entre ciclos para reproductores YY.

El resultado de las pruebas realizadas indica la presencia de una variación en la espermatogénesis, lo cual puede repercutir en la tasa reproductiva de los machos YY. La presencia de más células espermáticas puede no ser negativo si tomamos en cuenta las claras ventajas que presenta, pero hay que tener presente la dificultad de mantener la velocidad y trayectoria en tiempos adecuados para alcanzar el mayor número de gametos femenino, lo cual si generaría una dificultad para mantener la mayor cantidad de alevines producidos por ciclo reproductivo.

Debido a lo anterior, se sugiere realizar un análisis del perfil hormonal de la Hormona Folículo Estimulante (FSH). Un alto nivel de FSH confirmaría que existe una importante alteración en la espermatogénesis (la cual se sabe bien que está relacionada con el proceso de espermatogénesis). De lo contrario cuando el nivel de esta misma es bajo, podría estimularse la espermatogénesis para obtener resultados favorables.

REFERENCIAS

1. Abascal F J, Cosson J, Fauvel C. 2007. Characterization of sperm motility in sea bass: the effect of heavy metals and physicochemical variables on sperm motility. *Journal of Fish Biology*; 70(2): 509-522.
2. Abucay J S, Mair G C. 1997. Hormonal sex reversal of tilapias: implications of hormone treatment application in closed water systems. *Aquaculture Research*; 28(11): 841-845.
3. Akvaforsk A. 2005. *Selection and breeding programs in aquaculture*. Ed. T. Gjedrem. Dordrecht, The Netherlands: Springer. P. 364.
4. Alcántar Vázquez J P, Moreno de la Torre R, Calzada Ruíz D, Antonio Estrada C. 2014. Production of YY-male of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) from atypical fish. *Latin American Journal of Aquatic Research*; 42(3): 644-648.b
5. Alcántar Vázquez J P, Santos C S, de la torre R M, Estrada C A. 2014. Manual para la producción de supermachos de Tilapia del Nilo (*Oreochromis Niloticus*). SUNEО-UNPA, 80 p.a
6. Alvarado-Ruiz, C. 2015. Comparación del crecimiento de machos y hembras de la tilapia *Oreochromis niloticus* cultivadas en jaulas. *Uniciencia*, 29(1): 1-15.
7. Arévalo Villalta T J, Marín A G. 2011. Comparación del rendimiento del cultivo de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) utilizando machos reversados versus machos genéticamente mejorados (supermachos) criados en sistema intensivo (Doctoral dissertation, Universidad de El Salvador). 71 p.

8. Baltazar P M. 2007. La tilapia en el Perú: acuicultura, mercado, y perspectivas. *Revista Peruana de Biología*; 13(3): 267-273
9. Basurto O M. 2008. Algunos aspectos reproductivos de la Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linneo) en la laguna de Chila, Veracruz. Centro Regional de Investigación Pesquera en Puerto Morelos, Quintana Roo. <http://ecologia.uat.mx/bio-tam/v6n3/art6.html>.
10. Bocek A. 2003. Cultivo de machos de Tilapia sexados a mano (No. TILAPIA). International Center for Aquaculture: 8.
11. Comisión nacional de acuicultura y pesca (CONAPESCA), disponible en <http://www.gob.mx/conapesca>, consultado en noviembre de 2017.
12. Dantzer V, Knobil E, Neill J D. 1999. Encyclopedia of reproduction. *Encyclopedia of reproduction*; 1.
13. Fauvel C, Suquet M, Cosson J. 2010. Evaluation of fish sperm quality. *Journal of Applied Ichthyology*; 26(5): 636-643.
14. Gennotte V, François E, Rougeot C, Ponthier J, Deleuze S, Mélard C. 2012. Sperm quality analysis in XX, XY and YY males of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Theriogenology*; 78(1): 210-217.
15. Gómez Márquez J L, Peña Mendoza B, Salgado Ugarte I H, Guzmán Arroyo M. 2003. Reproductive aspects of *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) at Coatetelco lake, Morelos, Mexico. *Revista de biología tropical*; 51(1): 221-228.

16. Guerrero Quiroz L A, Roa Vidal J, Moreno Martínez J M., Taylor Preciado J, León Sánchez R, Avalos García O. 2008. Evaluación de la calidad del semen de tilapia en reproductores (*Oreochromis spp*). Avances en la investigación científica en CUCBA, 537-542.
17. Integrated Semen Analysis System (ISAS), Casa Systems, disponible en <http://www.proiser.com/en/semen-sperm-analysis/casa-sperm-analyzers>, consultado en noviembre de 2017
18. Juárez Juárez V. 2015, Evaluación de la hormona 17 α etinilestradiol en la diferenciación sexual, crecimiento e índice gonadosomático de la progenie de hembras atípicas de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*). (Tesis, Zootecnia. Universidad del Papaloapan). 40 p.
19. Lo Nostro F L. 2000. Espermatogénesis, ciclo anual e inducción hormonal de la espermiación en el pez protogínico diándrico, *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795 (*Teleostei, synbranchidae*) (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires). 127p.
20. Marín Ramírez J A. 2016. Feminization of nile tilapia *oreochromis niloticus* (L.) by diethylstilbestrol growth and gonadosomatic index. *Revista Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*; 3(7): 51-61
21. Martínez J G, Pardo Carrasco S. 2010. Crioconservación de semen en peces: efectos sobre la movilidad espermática y la fertilidad. *Acta Biológica Colombiana*; 15(2): 3-24.
22. Miquel G, María I. 2015. Morfología espermática y parámetros seminales básicos en varones normo y oligoastenoteratozoospermicos (Doctoral dissertation). 38p.

23. Morales A. 1974. Datos biológicos. El cultivo de la tilapia en México. Instituto Nacional de la Pesca. INP/si: 24-25.
24. Musa N. 2010. Sperm activation in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and the effects of environmentally relevant pollutants on sperm fitness. (Doctoral dissertation, institute of aquaculture. University of Stirling). 130p.
25. Nicovita. 2007. Manual de crianza de la tilapia. Alicorp. Lima, Peru: 48.
26. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), disponible en <http://www.fao.org>, consultado en noviembre de 2017
27. Rodríguez Verdugo E. (2012). Comparación de parámetros reproductivos en hembras de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) de alto y bajo valor genético.
28. Rubén S, Padrón Durán G M, Fernández López M, Gallardo R. 1999. Interpretación del análisis seminal. Revista Cubana Endocrinol; 1: 81-90. Http://www.bvs.sld.cu/revistas/end/vol9_1_98/end11198.htm, consultado en agosto de 2018
29. Rurangwa E, Biegiewska A, Slominska E, Skorkowski E F, Ollevier F. 2002. Effect of tributyltin on adenylate content and enzyme activities of teleost sperm: a biochemical approach to study the mechanisms of toxicant reduced spermatozoa motility. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology; 131(3): 335-344.
30. Rurangwa E, Kime D E, Ollevier F, Nash J P. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture; 234 (1-4): 1-28.

31. SAGARPA. 2011. Manual de producción de tilapia con especificaciones de calidad e inocuidad. FUNPROVER, Veracruz, México: 143 p.
32. Salirrosas Fernández R D. 2015. Evaluación de la calidad espermática en reproductores de *Oreochromis niloticus*, Tilapia Roja, YY y XY. (Tesis, facultad de ciencias biológicas. Universidad de Trujillo). 38 p.
33. Salirrosas Fernández R D. 2017. YY super males have better spermatic quality than XY males in red tilapia *Oreochromis niloticus*. *Sciencia Agropecuaria*; 8(4), 349-355.
34. Tabares C J, Tarazona A M, Olivera Ángel M. 2005. Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*; 18(2), 149-161.
35. Triana de la Paz I, López Pérez R, García Gutiérrez M B, Pérez Pérez de Prado N, Menéndez Hernández E M, Sánchez Freire P. 2016. Identification of subpopulations according to sperm head morphometry in men with normal spermiogram results. *Medicentro*; 20 (4): 278-287.
36. Tsang S H, Quintanilla M. 2008. Manual sobre reproducción y cultivo de tilapia. Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). CENDEPESCA, el Salvador: 64 p.
37. Vásquez F, Vasquez Echeverri D. 2012. Espermograma y su utilidad clínica. *Revista Científica Salud Uninorte*; 23(2): 220-230.
38. Viveiros A T M, Nascimento A F, Orfão L H, Isaú Z. A. 2010. Motility and fertility of the subtropical freshwater fish streaked prochilod (*Prochilodus lineatus*) sperm cryopreserved in powdered coconut water. *Theriogenology*; 74 (4): 551-556.