



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

INGENIERÍA EN ACUICULTURA

TESIS

EVALUACIÓN DE LA PROPORCIÓN DE SEXOS, CRECIMIENTO E ÍNDICE GONADOSOMÁTICO DE LA TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADA CON HORMONAS ESTRÓGENAS A UNA TEMPERATURA ELEVADA DE CULTIVO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO EN ACUICULTURA

PRESENTA:
RAMÍREZ LÓPEZ YEIMI SELENE

ASESOR DE TESIS:
DR. JUAN PABLO ALCÁNTAR VÁZQUEZ



Universidad del Papaloapan

Terra Uberrima, Mons Aperta

CLAVE: 20ESU3001N

Ingeniería en Acuicultura

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Loma Bonita, Oaxaca, el día 01 de octubre de 2015 a las 10:00 horas, se reunieron en la sala de juntas del Instituto de Agroingeniería, los miembros de la Comisión revisora de tesis, designada por la Jefatura de la Carrera de Ingeniería en Acuicultura de la Universidad del Papaloapan, con la finalidad de examinar la tesis titulada

“Evaluación de la proporción de sexos, crecimiento e índice gonadosomático de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada con hormonas estrógenas a una temperatura elevada de cultivo”

presentada por el C. **YEIMI SELENE RAMÍREZ LÓPEZ**, con número de matrícula **09040001**, aspirante al grado de **INGENIERO EN ACUICULTURA**.

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la comisión manifestaron QUE LA TESIS SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES, OTORGANDO SU APROBACIÓN PARA QUE EL ASPIRANTE PUEDA PROCEDER CON EL PROCESO DE TITULACIÓN.

Loma Bonita, Oaxaca, a 06 de octubre de 2015.

ATTE.

LA COMISIÓN REVISORA

Asesor de Tesis

DR. JUAN PABLO ALCÁNTAR VÁZQUEZ
Profesor-Investigador UNPA

Revisor de Tesis

DR. FELIPE BECÉRRIL MORALES
Profesor-Investigador UNPA

Revisor de Tesis

M. C. CAROLINA ANTONIO ESTRADA
Profesor-Investigador UNPA

Revisor de Tesis

M. C. NICOLÁS VALENZUELA JIMÉNEZ
Profesor-Investigador UNPA

AGRADECIMIENTOS

Primeramente le agradezco a **dios**, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional y por darme fuerzas para superar los obstáculos y dificultades presentados durante este trayecto.

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 asesor de Tesis el doctor **Juan Pablo Alcántar Vázquez**, por sus enseñanzas, por el apoyo que me brindo en este trabajo, por toda la paciencia que me tuvo todo este tiempo, por los consejos dados, gracias a él porque sin su ayuda no lo hubiese logrado.

A mi familia, por apoyarme siempre cuando lo necesite, y que siempre estuvo ahí ante cualquier situación.

Agradezco a los profesores que se encargaron de la revisión de la tesis, por sus valiosas sugerencias ante este trabajo, M.c. Carolina Antonio Estrada, Dr. Felipe Becerril Morales y Dr. Nicolás Valenzuela Jiménez.

A mis amigos (a) que me apoyaron, me alentaron y estuvieron para mí durante todo este trayecto, **Adriana, Paola, José Antonio, Migue y Eleazar**.

DEDICATORIA

Este trabajo, el cual representa para mí una meta más en mi camino, refleja la entrega por superarme y la lucha por vivir día con día, por lo cual dedico este trabajo a la mujer que me inspira superarme cada día, que me enseña que aunque las cosas a veces sean muy difícil, al final la recompensa es lo más maravilloso... **a ti mamá.**

Esperando que este esfuerzo mío por superarme como mujer, represente muchas de las cosas que has sacrificado en tu vida... al final vale la pena.

Te amo mamá.

A mi padre por brindarme su apoyo y confianza desde el inicio de mi carrera, por creer siempre en mí, aunque la vida nos haya hecho una mala jugada y ahora no estés entre nosotros, sé que estarás orgulloso de mí.

Así como también se lo dedico a mis hermanos José Luis, Maribel, Salvador y Ángel, a mis sobrinos, Salvador, José Rodrigo, Eliza y Keyli Jazmín.

ÍNDICE	Página
ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	v
1. Introducción	1
1.1 Marco teórico	1
1.1.1.- Biología de la tilapia.....	3
1.1.2.- Técnicas para el control del sexo en la tilapia del Nilo.....	4
1.2.- Feminización.....	7
1.2.1.- Variables a controlar durante el proceso de feminización.....	7
1.2.2.- Efecto de la feminización en las progenies revertidas.....	9
1.2.3.- Feminización y temperatura.....	10
2.- Planteamiento del problema	11
3.- Justificación	13
4.- Antecedentes	16
5.- Hipótesis y predicciones	21
5.1.- Hipótesis.....	21
5.2.- Predicción.....	21

6.- Objetivos	22
6.1.- Objetivo general.....	22
6.2.- Objetivos específicos.....	22
7.- Materiales y métodos	23
7.1.- Área de estudio.....	23
7.2.- Reproductores y obtención de desoves.....	23
7.3.- Alimento hormonado.....	23
7.4.- Alevines.....	25
7.5.- Etapa de juveniles.....	27
7.6.- Evaluación de la proporción de sexos e índice gonadosomático.....	27
7.7.- Supervivencia.....	29
7.8.- Análisis de datos.....	29
8.- RESULTADOS	31
8.1.- Periodo de alevín.....	31
8.2.- Periodo juvenil y de engorda.....	33
8.3.- Supervivencia, evaluación de la proporción de sexos e IGS.....	35
9.- DISCUSIÓN	36
10.- CONCLUSIONES	44
11.- RECOMENDACIONES	45
12.- LITERATURA CITADA	46

ÍNDICE DE FIGURA

	Página
Figura 1.- Aplicación de la hormona al alimento mediante un atomizador, utilizando alcohol etílico como vehículo.....	24
Figura 2.- Sistema de recirculación cerrado en el que se llevó a cabo la reversión sexual.....	25
Figura 3.- Ejemplo de una imagen procesada en el programa ImageJ, aquí se observan los trazos realizados en los peces durante su medición.....	26
Figura 4.- Sistema de estanques de ferrocementos de 3 m de diámetro adicionada con agua verde.....	28
Figura 5.- Gónadas de los peces sacrificados en las que se puede observar las diferencias entre ambos sexos (hembra, presencia de oocitos de tono amarillos; macho de color crema con líquido seminal).....	29
Figura 6.- a.- Peso Húmedo, b.- Longitud total obtenida durante el periodo de alevín en la tilapia de Nilo.....	32
Figura 7.- a.- Peso Húmedo, b.- Longitud total obtenida durante el periodo juvenil y engorda en la tilapia de Nilo.....	34

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Principales estrógenos naturales y sintéticos usados en la feminización de peces (Piferrer, 2001).....	9
Cuadro 2 Porcentaje de supervivencia (S), proporción de sexos e índice gonadosomático (IGS) obtenido en adultos de tilapia de Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> alimentadas con diferentes tipos de hormonas estrógenos y cultivados a 34 ± 0.5 °C durante el periodo de alevín.....	35

RESUMEN

La tecnología para la producción de machos YY tiene como finalidad obtener poblaciones monosexo de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) libres de hormonas. Sin embargo, la primera etapa de esta técnica requiere la feminización de alevines XY. En el presente trabajo se utilizaron tres hormonas estrógenas, estradiol-17 β (E_2), 17 α -etinilestradiol (EE_2) y dietilestilbestrol (DES) a una misma concentración (120 mg kg⁻¹) y a una temperatura de cultivo durante el periodo de alevín de 34 \pm 0.5°C. Esto con el objetivo de evaluar su efecto sobre la proporción de sexos, crecimiento e índice gonadosomático (IGS) de la tilapia de Nilo. El tratamiento se realizó por triplicado durante 17 días en acuarios de 85 L. Los alevines utilizados tuvieron un peso promedio inicial de 0.02 g y las biometrías (peso húmedo y longitud total) se realizaron cada 10 días. Una vez terminado el periodo de alevin, los pre-juveniles se trasladaron a estanques de ferrocemento de 3-m de diámetro hasta el final del experimento. En esta etapa se realizaron biometrías cada 21 días. La proporción de sexos se obtuvo mediante la observación macroscópica de las gónadas. Adicionalmente, se sacrificaron 60 peces (excepto para el grupo alimentado con EE_2) por grupo para extraer la gónada, la cual fue pesada para calcular el IGS. Durante el periodo de alevin, el grupo control mostró un crecimiento (peso y longitud) significativamente ($P < 0.05$) mayor al observado en los grupos alimentados con hormonas. Durante el periodo de juvenil y de engorda se observó un crecimiento (Peso y longitud) significativamente ($P < 0.05$) mayor en el grupo alimentado con EE_2 , en comparación con el grupo control y los grupos alimentado con E_2 y DES. Este mayor crecimiento fue probablemente el resultado de la alta mortalidad observada en este grupo. Todos los grupo alimentados con hormonas mostraron una

proporción de hembras que se desvía significativamente ($P < 0.001$) de la proporción de hembras esperada (50 %). La mayor proporción de hembras se observó en el grupo alimentado con EE_2 (100 %). No se observaron diferencias significativas en el IGS entre el grupo control y los grupos alimentados con hormonas. La temperatura de cultivo durante el periodo de alevín no mostró un efecto masculinizador sobre las gónadas. La acción de los estrógenos suministrados fue eficiente en contrarrestar el efecto de la elevada temperatura de cultivo.

Palabras claves: Machos YY, tilapia de Nilo, feminización, proporción de sexos, índice gonadosomático.

ABSTRACT

The technology for the production of YY-males aims to generate monosex populations of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* without the use of hormones. However, the first stage of this technology requires the feminization of XY fry. In the present study three estrogen hormones were used, estradiol-17 β (E₂), 17 α -ethinylestradiol (EE₂) and diethylstilbestrol (DES) all of the same concentration (120 mg kg⁻¹), and a temperature of 34 \pm 0.5 °C was maintained during the fry cultivation period. These parameters were used with the objective of evaluating their effect on the proportion of sexes, growth and gonadosomatic index (IGS) of Nile tilapia. The treatment was realized in triplicate for 17 days in 85 L aquaria. The fry used had an initial average weight of 0.02 g and the biometrics (wet weight and total length) were carried out every 10 days. Once the fry period was completed, the pre juveniles were moved to ponds of ferrocement 3-m in diameter until the end of the experiment. At this stage the biometrics were evaluated every 21 days. The sex ratio was obtained by means of macroscopic observation of the gonads. In addition, 60 fish per group were sacrificed (except for the group fed with EE₂) to remove the gonad, which was weighed to calculate the GSI. During the fry period, the control group showed a growth (weight and length) significantly ($P < 0.05$) greater than the groups observed fed with hormones. During the posttreatment period, the growth (weight and length) observed was significantly ($P < 0.05$) higher in the group fed with EE₂, in comparison with the control group and the groups fed with E₂ and DES. This higher growth was probably the result of the high mortality rate observed in this group. All the groups fed with hormones showed a proportion of females that deviated significantly ($P < 0.001$) from the proportion of females expected (50 %). The highest proportion of females was observed in the group fed

with EE₂ (100%). There were no significant differences in the GSI between the control group and the groups fed with hormones. The temperature during the fry cultivation period not showed a masculinization effect on the gonads. The effectiveness of estrogen supplied was efficient in counteracting the effects of the high temperature of cultivation.

Keywords: YY-males, Nile tilapia, feminization, sex ratio, gonadosomatic index.

1. Introducción

1.1.- Marco teórico

La producción de las tilapias se ha incrementado de manera continua a nivel mundial y se está convirtiendo en una actividad agroindustrial de alto impacto económico y social, mediante la cual es posible generar ingresos, mejorar la calidad de vida y ofrecer alimento de alto valor nutricional a la población mundial (Torres, 2008). Las tilapias son el segundo grupo de peces más producido por la acuicultura, con una contribución a la producción del 20 % del volumen total de peces, la cual se incrementa cada año (FAO, 2012). Actualmente, a nivel mundial, la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) es responsable de más del 85 % de la producción total del grupo de las tilapias, mientras que el 15 % restante corresponde a las demás especies, entre las que se destacan la tilapia de Mozambique (*O. mossambicus*), la tilapia azul (*O. aureus*), la tilapia hornorum (*O. hornorum*); además de sus híbridos de colores rojo, naranja, azul, rosado, blanco, gris o negro (Daza *et al.*, 2005).

La producción de tilapia ha alcanzado una amplia distribución, actualmente el 72 % se cultiva en Asia (principalmente en China, Filipinas y Tailandia), el 19 % en África y el 9 % en América. En la última década, de los cuatro países más poblados del mundo, tres de ellos son los mayores productores de tilapia: China, Indonesia, Brasil, mientras que el otro es el más grande importador de tilapia del mundo, Estados Unidos (FAO, 2012).

En cuanto a la producción nacional, a pesar de que México tiene más de 10,000 kilómetros de costas y más de un millón de hectáreas de cuerpos de aguas interiores, la acuicultura es una industria relativamente reciente, que aún está en etapa de desarrollo. El crecimiento acuícola, en volumen, entre 1993 y 2003, de acuerdo con las cifras oficiales fue del 22 %, al alcanzar en este último año 201,780 ton. No obstante a este incremento, la

producción acuícola nacional está por debajo del crecimiento mundial promedio (CONAPESCA, 2005).

El primer registro de producción de tilapia en México se dio en 1970 (200 ton), de 1984 al 2002, la producción se incrementó progresivamente con una tasa anual de 12.75 %. En el 2003, el cultivo de tilapia ocupó el segundo lugar en términos de producción (61,516 ton) y el tercer lugar en términos de valor (608, 080,000 pesos) (CONAPESCA, 2005). Sin embargo, para el 2011 la tilapia ocupó el quinto lugar en volumen en producción dentro de las especies acuáticas, con un total de 75,927 ton de peso vivo. De este volumen, la tilapia cultivada por la acuicultura aportó más del 90 %, proveniente principalmente de los estados de Veracruz (15.23 %), Chiapas (12.16 %), Jalisco (10.11 %) y Tamaulipas (8.79 %). Lo anterior, coloca a esta especie como el tercer grupo de peces en cuanto a valor económico, ya que genera más de 84 millones de dólares y presenta un crecimiento anual de 1.44 % en los últimos 10 años (CONAPESCA, 2011).

En cuanto a la región del Papaloapan, el registro del año 2011 indica que se produjeron aproximadamente 12,186.8 ton de tilapia, de las cuales 11,563.68 ton correspondieron al estado de Veracruz y 623 ton al estado de Oaxaca. Así, la producción en dicha región representa el 16 % del total en el país. Lo anterior, hace evidente el potencial de esta región en la producción de tilapia. Por tanto, es necesario impulsar el cultivo y consumo de esta especie en la región, con la finalidad de aprovechar los beneficios nutritivos que este pez aporta (CONAPESCA, 2011).

1.1.1.- Biología de la tilapia.

Las tilapias habitan principalmente en regiones tropicales del mundo, donde existen las condiciones que favorecen su reproducción y crecimiento. Entre sus variedades destacan la tilapia del Nilo (*O. niloticus*), la tilapia azul (*O. aureus*) y la tilapia de Mozambique (*O. Mossambicus*) (Arredondo y Lozano, 1996).

Las tilapias se caracterizan por ser un grupo de peces de aguas cálidas, que vive tanto en aguas dulces como saladas. Son especies aptas para el cultivo en zonas tropicales y subtropicales. Debido a su naturaleza, las tilapias, se adaptan con gran facilidad a ambientes lénticos, estanques, lagunas, reservorios y aceptan con facilidad diferentes tipos de alimento, tanto los producidos naturalmente como los alimentos artificiales. Lo anterior las convierte en una de las especies importantes de explotación gracias a su alta rusticidad (capaz de sobrevivir a condiciones adversas de crecimiento), alta adaptabilidad a diferentes condiciones del medio, de fácil reproducción y alta resistencia a enfermedades, omnívora, aunque principalmente herbívora, tolera altas densidades de cultivo, es capaz de utilizar la productividad primaria de los estanques y finalmente, puede ser manipulada genéticamente (Jiménez y Arredondo, 2000).

Sin embargo, un problema recurrente durante su cultivo, es la alta precocidad reproductiva, que presenta sobrepoblación en los estanques y con ello la aparición de enfermedades causadas por el estrés y por un decremento de la calidad del agua, especialmente del oxígeno. Adicionalmente, la maduración precoz trae como consecuencia que los peces utilicen la energía en la conducta sexual y en la maduración de los gametos, en lugar del crecimiento somático. Este efecto es más notorio en la hembra, ya que esta se

encarga de incubar los huevos en la boca y deja de comer en el tiempo que tardan en eclosionar los huevos fertilizados (Arboleda, 2005).

1.1.2.- Técnicas para el control del sexo en la tilapia del Nilo.

Para dar solución a la problemática de la maduración precoz, existen varias estrategias que permiten controlar o evitar la reproducción de tilapia del Nilo en condiciones de cultivo y con esto reducir los problemas de sobrepoblación dentro de los estanques:

- El sexado manual; consiste en separar a los machos y a las hembras, los cuales son cultivados en estanques separados, el trabajo es laborioso y consume mucho tiempo (Jiménez y Arredondo, 2000; Daza *et al.*, 2005).
- Introducción de depredadores tales como: la carpa, la perca del Nilo, la lobina negra y la tenguayaca que son 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).
- Los cultivos a elevadas densidades o en jaulas flotantes pueden retrasar la aparición de la maduración y hacen físicamente imposible la fertilización de los huevos (Daza *et al.*, 2005).
- Producción de híbridos obtenidos 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).
- La producción de peces estériles mediante la manipulación genética (haploides, triploides, 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 y Páramo, 2001; Daza *et al.*, 2005).

- Por último, la reversión sexual a través de hormonas ha sido reconocida por muchos años como la técnica más eficiente para producir poblaciones monosexo, exclusivamente de machos, ya que estos muestran un mejor desempeño en cuanto a crecimiento y ganancia de peso.

La aplicación de hormonas durante 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 98% de machos (Jiménez y Arredondo, 2000; Hurtado, 2005; Daza *et al.*, 2005). Sin embargo, actualmente la utilización de hormonas para revertir el sexo dentro de la industria de la tilapia se ha convertido en un tema muy controvertido, ya que existe una creciente preocupación por la acumulación de hormonas naturales y sintéticas en los cuerpos de agua cercanos a las granjas, principalmente en zonas costeras (Leet *et al.*, 2011). Por otro lado un gran número de consumidores demanda una producción amigable con el ambiente y no están interesados en consumir productos que han sido tratados con hormonas o sustancias activas similares (Müller y Hörstgen, 2007).

El desarrollo y aplicación de nuevas técnicas que requieren un reducido uso de hormonas ha venido a ocupar en los últimos años un espacio importante como alternativas rentables a nivel comercial. Una de estas alternativas ha sido desarrollada en la tilapia azul y consiste en revertir machos por medio de un estrógeno administrado oralmente durante 40 días (Melard, 1995). Esta reversión produce pseudoembras (con genotipo masculino) que al ser cruzadas con machos normales producen, dependiendo de varios factores

(genéticos y ambientales), entre un 68 a un 100 % de machos (Melard, 1995; Desprez *et al.*, 1995.).

Otra de estas técnicas consiste en el desarrollo de machos YY, también conocidos como "supermachos". Esta técnica ha sido desarrollada por la industria privada y pública en países de Europa y en el sureste de Asia (Filipinas). El objetivo de producir reproductores supermachos de tilapia, es que al cruzarlos con hembras normales (XX) se pueden obtener poblaciones compuestas al 100% por organismos genéticamente machos (XY) sin el uso de hormonas (Varadaraj, 1989; Vera *et al.*, 1996; Mair *et al.*, 1997). Sin embargo, aunque la técnica no requiere el uso de hormonas para producir las poblaciones monosexo que son comercializadas, la primera parte de la técnica requiere la feminización de lotes de alevines con genotipo XY a través de hormonas estrógenas, ya sean naturales o sintéticas.

La feminización de alevines XY se lleva a cabo, al igual que la masculinización, a través de la aplicación de hormonas durante la etapa de alevín, cuando la gónada aún no se ha diferenciado. Lo anterior garantiza que se obtendrá una población compuesta por un 100 % de hembras, de las cuales el 50 % (en teoría) serán hembras XY. Estas hembras al cruzarse con machos normales (XY) arrojarán una descendencia compuesta por un 75 % de machos, del cual el 25 % tendrán un genotipo XX (hembras normales), un 50 % tendrá un genotipo XY (machos normales) y un 25 % tendrá un genotipo YY (supermachos) (Mair *et al.*, 1997). La feminización es una etapa crítica durante la producción de machos YY, ya que a diferencia de la masculinización que se encuentra bien controlada y con frecuencia arroja porcentajes de machos cercanos al 100 %, la feminización ha demostrado en ocasiones ser más complicada, por lo cual actualmente todavía se están evaluando diferentes protocolos para optimizar la proporción de hembras obtenida.

1.2.- Feminización.

La feminización directa por medio de tratamiento hormonal es el proceso más utilizado en la producción comercial de la tilapia del Nilo para la obtención de poblaciones monosexo. Una de sus ventajas, es que se puede aplicar de distintas maneras, ya sea vía oral, a través de inmersiones de embriones en soluciones con esteroides, o bien, por enriquecimiento bioencapsulado, el cual consiste en hacer llegar el esteroide al pez utilizando como vehículo una presa viva (Contreras *et al.*, 2004). Actualmente la técnica más utilizada para feminizar de manera directa es a través del alimento, ya que los resultados son más homogéneos e incluso efectivos hasta en un 100 %. Además, el alimento hormonado está comercialmente disponible, o bien, se puede preparar fácilmente.

1.2.1.- Variables a controlar durante el proceso de feminización.

Las variables cualitativas a controlar durante la feminización corresponden, en este caso, al tipo de esteroide el cual se utiliza como feminizante, puede ser de distinta naturaleza como son los estrógenos naturales, particularmente el estradiol-17 β . Sin embargo, el uso de los estrógenos sintéticos como el 17 α -etinilestradiol y el dietilestilbestrol ha cobrado fuerza en los últimos años e incluso algunas sustancias no esteroideas se han utilizado deliberadamente para alterar el sexo de los peces tal es el caso del N,N-dimetilformamida que se ha utilizado durante el desarrollo de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) demostrando que muchas sustancias, ya sea hormonas o neurotransmisores, se pueden aplicar potencialmente en la reversión de sexos (Van den Hurk *et al.*, 1980; Piferrer, 2001).

Actualmente, existen 12 diferentes compuestos estrogénicos feminizantes, los cuales han sido utilizados en el control del sexo de peces. Comúnmente los estrógenos sintéticos tienen un mayor efecto de reversión, en comparación con los estrógenos debido

a que están sujetos a una eliminación más lenta, aunque las diferencias en el receptor del esteroide sexual también puede ser relevante (Piferrer, 2001) (Ver cuadro 1).

Los estrógenos sintéticos 17 α -etinilestradiol (EE₂) y dietilestilbestrol (DES) se han utilizado en varias especies de peces y están entre los agentes más potentes feminizantes probados hasta la fecha. Su potencia relativa observada puede variar entre especies y depende de las condiciones ambientales. Rosenstein y Hulata (1994) reportan que el DES es más potente que el EE₂ como feminizante para la tilapia azul. De igual forma, en la tilapia del Nilo los estrógenos como DES en altas concentraciones (200 y 400 mg kg⁻¹ o EE₂ en dosis 20, 50 y 100 mg kg⁻¹), durante 28 días son aptos para producir hembras. Sin embargo, con este estrógeno solo se logran porcentajes de feminización cercanos a 100 %. Lo anterior demuestra que la intensidad del tratamiento hormonal y las condiciones ambientales (en especial la temperatura), así como los factores (genéticos) parentales afectan la feminización (Jiménez y Arredondo, 2000; Piferrer, 2001).

Las variables cuantitativas a controlar durante el proceso de feminización son la dosis y la duración de aplicación del tratamiento hormonal. La eficiencia (o rango de acción) de cada una de estas variables, en una determinada especie, dependerá del tipo de estrógeno y su origen. En la tilapia del Nilo existe un periodo lábil durante el desarrollo del alevín, el cual se define como el tiempo en el cual las gónadas, todavía sexualmente indiferenciadas, son susceptibles a la acción de los esteroides exógenos (Hackmann y Reinboth, 1974; Piferrer, 2001; Wang y Tsai, 2000).

1.2.2.- Efecto de la feminización en las progenies revertidas.

Es común observar alteraciones en las progenies revertidas, principalmente negativas, a la tasa de crecimiento y en especial al desarrollo gonadal, el cual se da principalmente por

una reducción significativa del crecimiento de la gónada (estimada a través del índice gonadosomático) o bien por malformaciones morfológicas que causan la esterilidad o semiesterilidad de las hembras XY obtenidas. Esto es un aspecto muy importante dentro de la tecnología para la producción de machos YY, ya que se pretende que las hembras XY obtenidas sean utilizadas como reproductoras para la obtención de machos YY. Una hembra XY con problemas de fertilidad no es viable candidato para ser elegida como reproductor. Lo anterior es ocasionado por los efectos de las hormonas estrógenas a nivel fisiológico, en especial a concentraciones elevadas (Lázaro-Velasco, 2014; Marín-Ramírez, 2014).

Cuadro 1. Principales estrógenos naturales y sintéticos usados en la feminización de peces (Piferrer, 2001).

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

1.2.3.- Feminización y temperatura.

Los efectos de la feminización sobre aspectos de producción o reproductivos ha ocasionado que se busquen alternativas para reducir o bien eliminar el uso de hormonas estrógenas. Una alternativa es el control de la temperatura del agua durante el periodo de alevín. Actualmente se sabe que la determinación del sexo en la tilapia del Nilo, dependiendo de factores genéticos parentales, es fuertemente influenciada por la temperatura. Lo anterior ha generado investigación encaminada a determinar si el efecto de la temperatura es lo suficientemente fuerte para influir significativamente en la proporción de sexos en poblaciones de tilapia (Beardmore *et al.*, 2001; Kwon *et al.*, 2002). Algunos investigadores han encontrado que las temperaturas elevadas estimulan una masculinización de las gónadas, mientras que temperaturas bajas pueden feminizar las gónadas (Desprez y Melard, 1998; Wang y Tsai, 2000; Karayücel *et al.*, 2003). El efecto de la temperatura, al igual que el efecto de las hormonas, se da en los primeros días de vida del alevín (Wang y Tsai, 2000), por lo cual es importante evaluar, su efecto bajo ciertas condiciones de cultivo, su interacción con hormonas estrógenas, así como su efecto en el crecimiento, pero especialmente, en el desarrollo gonadal.

2.- Planteamiento del problema

Hoy en día en la producción comercial de la tilapia del Nilo, la reversión sexual influenciada por hormonas exógenas es la técnica más usada para la obtención de poblaciones monosexuales, las cuales aumentan significativamente la rentabilidad de las granjas acuícolas. Esto conlleva a un control del sexo en los peces y lo convierte en un fuerte incentivo comercial para cultivar poblaciones de un solo sexo. Lo anterior permite una comercialización de peces más grandes y de tallas más homogéneas, además de que permite la comercialización de pescado durante todo el año. Sin embargo, la reversión sexual directa a través del uso de hormonas, genera una percepción negativa por parte de los consumidores finales del producto y por otro lado, la liberación de grandes volúmenes de hormonas a través de los efluentes de los laboratorios de producción acarrea problemas a los cuerpos de agua circundantes (ríos, lagos y zonas costeras).

Aunque actualmente existen varias técnicas alternativas, para reducir el uso de hormonas en el cultivo de la tilapia del Nilo, como es el caso de la producción de machos YY, en la cual el producto final (pez para venta directa) no recibe hormonas, las tendencias actuales apuestan por una eliminación completa del uso de hormonas exógenas de la producción de alevines y engorda a talla comercial.

Lo anterior ha convertido a la feminización de progenies XY, primera y única etapa dentro de la producción de machos YY que emplea hormonas, en un cuello de botella del proceso, ya que la reducción en el uso de hormonas no garantiza altas proporciones de hembras, mientras que el uso de elevadas concentraciones genera alteraciones en la tasa de crecimiento y malformaciones gonadales en las progenies revertidas.

Una alternativa a lo anterior, es el control de la temperatura del agua durante el periodo de alevín, la cual ha mostrado en varias especies, incluyendo la tilapia del Nilo, la capacidad de modificar las proporciones sexuales obtenidas. Sin embargo, no se conoce el efecto que se produce en la proporción sexual, el crecimiento somático y el desarrollo gonadal, bajo distintos tipos de hormona en condiciones de altas temperaturas.

3.- Justificación

La región del Papaloapan es una de las zonas con mayor potencial de crecimiento para el cultivo de la tilapia del Nilo, cuenta con las condiciones climáticas que favorecen su cultivo a niveles que muy pocas otras regiones en nuestro país pueden ofrecer. Lo anterior, sumado a las características biológicas de la tilapia del Nilo y el aumento de su consumo, tanto en los mercados nacionales como internacionales, generan un gran potencial de desarrollo para esta zona.

Actualmente la región del Papaloapan representa el 16 % del total nacional del cultivo de tilapia del Nilo, sin embargo, el estado de Oaxaca produce menos del 5 % del volumen total (cerca de 600 toneladas anuales) a pesar de contar con la presencia de grandes embalses de agua. 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, es decir más amigable con el ambiente.

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 cantidades de hormonas para masculinizar progenies han provocado una que se genere en grupos ambientalistas una preocupación por la acumulación de hormonas en los cuerpos de agua, como ríos y lagos.

Esta preocupación ha impulsado el desarrollo de nuevas técnicas que permitan reducir el uso de hormonas en el producto final, así como incrementar los rendimientos obtenidos por el productor. Una de estas técnicas es la producción de machos YY, también llamados "supermachos".

La producción de machos YY ha sido desarrollada con éxito desde hace tres años en las instalaciones de la Universidad del Papaloapan, campus Loma Bonita, logrando al momento formar un pequeño lote de machos YY(Alcántar *et al.* 2014a; Alcántar *et al.* 2014b) . Sin embargo, la feminización, la cual es la primera etapa del proceso aún requiere de investigación encaminada a optimizar los porcentajes de hembras obtenidos, reducir el uso de hormonas, así como incrementar el crecimiento y reducir el número de anomalías gonadales de las progenies revertidas.

Una alternativa para reducir el uso de hormonas es el control de la temperatura del agua durante el periodo de alevín. La temperatura ha demostrado en la tilapia del Nilo tener el potencial para alterar la proporción de sexos obtenida, ofreciendo la posibilidad de reducir o bien eliminar el uso de hormonas del cultivo de la tilapia del Nilo, sin alterar el crecimiento o el desarrollo gonadal de las progenies revertidas.

El uso de la temperatura para revertir el sexo en la tilapia del Nilo, constituye una de las alternativas al uso desmedido de hormonas en el cultivo comercial de esta especie. Este uso desmedido ha ocasionado problemas ambientales y una percepción negativa por parte de los consumidores finales, la cual podría frenar el crecimiento comercial del cultivo de tilapia. Lo anterior ha generado un cambio en las reglamentaciones a nivel mundial, el cual tiene como objetivo prohibir el uso de hormonas para revertir el sexo en los siguientes años. Una vez que esta prohibición entre en vigor, el control de la temperatura será una de las alternativas más importantes para revertir el sexo en la tilapia. Es por esto, que es importante evaluar desde ahora su efecto en la proporción de hembras obtenidas, así como sobre crecimiento y el desarrollo gonadal.

El experimento a desarrollar es la última etapa de un experimento general diseñado para evaluar los porcentajes de feminización alcanzados bajo tres diferentes temperaturas de cultivo durante el periodo de alevín, una baja (21.5 °C), una estándar (27.0 °C) y una elevada (34.0 °C). Al momento se han evaluado las dos primeras etapas (fría y estándar), por lo que el presente trabajo se centra en la temperatura elevada.

4.- Antecedentes

La reversión sexual ha sido utilizada desde hace más de medio siglo para controlar la reproducción tanto de especies marinas como dulceacuícolas, en especial, de aquellas especies en las cuales uno de los dos sexos presenta alguna ventaja comercial o de producción (color, crecimiento, hueva).

Dentro de las alternativas que ofrece la reversión sexual, la masculinización durante el periodo de alevín se ha convertido, en comparación con la feminización, en una de las técnicas más empleadas a nivel mundial para producir poblaciones monosexo. A este respecto, Jiménez y Arredondo (2000) probaron el efecto masculinizador de la fluoximesterona a una dosis de 1 mg kg^{-1} en la tilapia del Nilo variedad Stirling, variedad roja y el híbrido Rocky mountain. Para llevar a cabo lo anterior se utilizó un sistema de recirculación cerrado con acuarios de 50 litros. El tratamiento duró 30 días a una temperatura constante de $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y a una densidad de 1 organismo/L. La proporción de machos obtenida fue de 89.5 % para la variedad Stirling, 66% para la variedad roja y 86.2% para el híbrido Rocky Mountain. Los resultados obtenidos mostraron diferencias en la sensibilidad a la hormona entre variedades, especialmente en la variedad roja.

Martínez (2003) probó la eficiencia de la fluoximesterona en la tilapia del Nilo para producir poblaciones monosexo compuestas exclusivamente por machos. Utilizó para este propósito 2.5 mg de hormona por kilogramo de alimento comercial. El primer experimento lo realizó en tinas de fibra de vidrio de 200 litros a una densidad de 5 organismo/L, obteniendo una proporción de 94 % de machos, mientras que para el segundo experimento utilizó jaulas flotantes de malla mosquitero de 2 m^3 a una densidad de 500 organismo/ m^3

obteniendo una proporción de 90.7 % de machos. En ambos casos la masculinización se llevó a cabo durante 28 días a una temperatura promedio de 24.5°C.

La feminización, a diferencia de la masculinización, es practicada solo en algunas especies donde la producción de huevos cobra una mayor importancia. A este respecto, Foyle (1993) analizó en el salmón plateado (*Oncorhynchus kisutch*) la proporción de sexos de individuos sometidos durante el periodo de larva a una inmersión de 2 horas en 200 µg/L de estradiol-17β. A los 380 días post-eclosión se observó un 78 % de hembras, un 15 % de intersexo y un 7% de machos. La inmersión logró estimular un mayor desarrollo de hembras, aunque la elevada presencia de individuos intersexo indica una dosis inadecuada a nivel fisiológico.

En la lubina *Dicentrarchus labrax*, Blázquez *et al.* (1998) evaluaron el efecto de los estrógenos estradiol-17β (E₂) y el 17 α-etinilestradiol (EE₂) en el alimento con dos dosis 5 y 10 mg kg⁻¹ de alimento. El experimento consistió en la exposición a E₂ y EE₂ con una dosis de 10 mg kg⁻¹ de alimento por 200 días. Los resultados indicaron que el E₂ suprimió el desarrollo gonadal en 13 % de los peces tratados, pero indujo al 57 % de los peces a desarrollar gónadas con tejido germinal de ambos sexos. Mientras que utilizando el EE₂ se obtuvo un 80 % hembras, contra un 33 % del grupo control. Estos autores concluyen que la exposición a estrógenos durante la ontogénesis temprana es capaz de alterar la proporción de sexos en alevines recién eclosionados.

Vidal *et al.* (2008) evaluaron en el robalo blanco *Centropomus undecimalis* el efecto de la suplementación del esteroide estradiol-17β en el alimento. Para ello se evaluaron seis tiempos de exposición a una dieta suplementada con estradiol-17β (7, 14, 21, 28, 35 y 42 días) al 50 mg kg⁻¹ y una dieta control sin esteroide. Después del tratamiento los peces

fueron mantenidos con una dieta comercial hasta completar 204 días de edad. Los resultados obtenidos arrojaron una feminización del 13 y 15 % para el tratamiento de 7 y 14 días respectivamente, mientras que para los días 21, 28, 35 y 42 se obtuvo de un 87 a un 93 % de feminización.

Utilizando alimento vivo como vehículo para dosificar estrógenos en peces carnívoros, Contreras *et al.* (2004) evaluaron el uso de nauplio de *Artemia salina* enriquecida con esteroides como un método alternativo para la inversión de sexo. Lo anterior sirvió como base para llevar a cabo la feminización de crías de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*), a través de la alimentación con nauplio de *Artemia* enriquecido con 2,500 µg E₂ por 5, 10, 20 y 28 días a partir de la primera alimentación externa. Se logró un incremento significativo en el porcentaje de hembras del 51.7 % y 58.0 %, por periodos de 20 y 28 días respectivamente, comparado con el grupo control, el cual registró un 21.3 % de hembras.

Marín-Ramírez (2014) evaluó el efecto de concentraciones crecientes de dietilestilbestrol (DES) (100, 200, 300, 400 y 0 mg kg⁻¹) durante el periodo de alevín en la proporción de sexos. Los alevines fueron obtenidos a partir de reproductores mantenidos en la Universidad del Papaloapan y fueron sembrados en un sistema de recirculación cerrada compuesto por 15 acuarios de 85 L de capacidad. La hormona fue proporcionada por 20 días a saciedad aparente (11 veces al día) desde el momento de siembra. Una vez terminado el experimento los pre-juveniles fueron trasladados a estanques de ferrocemento de 3 m de diámetro y alimentados de acuerdo al plan de alimentación establecidos. Los resultados obtenidos arrojaron que la concentración de 400 mg kg⁻¹ de DES fue la que produjo la mayor proporción de hembras (91 %) en comparación con el resto de las

concentraciones (100 mg kg^{-1} 62 %, 200 mg kg^{-1} 67 % y 300 mg kg^{-1} 64 %) y el grupo control (39 %).

Utilizando la temperatura del agua durante el periodo de alevín como inductor de la reversión sexual, Azaza (2007) evaluó el efecto de la temperatura del agua en el crecimiento y la proporción de sexos de juveniles de tilapia del Nilo. En este caso se utilizaron alevines de 20 días de nacidos, expuestos a cuatro diferentes temperaturas, 19, 32, 34 y 36.5°C . Cada tratamiento se llevó a cabo por cuadruplicado. El tratamiento duró 28 días y se obtuvo un porcentaje de hembras que descendió solamente cuando la temperatura del agua se incrementó por encima de los 34°C ; 52.29 % (19°C), 50.46 % (32°C), 52.01 % (34°C) y 26.85 % (36.5°C).

Lázaro-Velasco (2014) realizó dos experimentos en los que utilizó tres hormonas, estradiol- 17β (E_2), 17α -etinilestradiol (EE_2) y dietilestilbestrol (DES) a una misma concentración (120 mg), con dos temperaturas de cultivo, 21.5 y 27.5°C . Esto con el objetivo de evaluar su efecto sobre la proporción de sexos. El tratamiento se realizó por triplicado durante 20 días en acuarios de 85 L. las biometrías se realizaron cada 10 días, los pre-juveniles se trasladaron a jaulas flotantes y finalmente a estanques de ferrocemento hasta el final del experimento, en esta etapa se realizaron biometrías cada 21 días. La proporción de sexos se obtuvo mediante la observación macroscópica de las gónadas. Para el primer experimento (21.5°C) se alcanzó 100% de feminización con las hormonas E_2 y DES, mientras que para el grupo control un 98 %, mientras que el EE_2 obtuvo 93% de feminización. Para el segundo experimento (27.5°C) se obtuvo para el E_2 un 64 %, para el EE_2 un 83 %, y para el DES un 91 %, mientras que el grupo control registro solo un 45 %

de feminización. Estos resultados indican un fuerte componente parental genético, es decir una sensibilidad genética a una feminización de las gónadas a bajas temperaturas.

5.- Hipótesis y predicciones

5.1.- Hipótesis

1.- Existe un efecto opuesto entre la temperatura y las hormona estrógenas proporcionadas en el alimento sobre la determinación del sexo en el alevín de tilapia del Nilo (*O. niloticus*).

2.- El crecimiento y el índice gonadosomático en la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) no muestran un efecto negativo resultado de la aplicación de hormonas estrógenas.

5.2.- Predicción

Se espera obtener una proporción de hembras que indique la presencia de un efecto antagónico en la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) entre las hormonas estrógenas y la temperatura de cultivo utilizada durante el periodo de alevín (34 °C).

El crecimiento y el índice gonadosomático obtenidos al final del experimento no mostrarán un decremento provocado por la aplicación de hormonas exógenas.

6.- Objetivos

6.1.- Objetivo general

- Determinar la proporción de sexos, crecimiento e índice gonadosomático obtenidos en la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) tratada con hormonas estrógenas a una temperatura elevada (34 °C) de cultivo durante el periodo de alevín.

6.2.- Objetivos específicos

- Evaluar la proporción de sexos obtenida en la tilapia del Nilo utilizando estradiol-17 β , 17 α -etinilestradiol y dietilestilbestrol a una temperatura elevada (34 °C) de cultivo durante el periodo de alevín de la tilapia de Nilo.
- Comparar el crecimiento hasta madurez gonadal de los grupos tratados con estradiol-17 β , 17 α -etinilestradiol y dietilestilbestrol a una temperatura elevada (34 °C) de cultivo durante el periodo de alevín.
- Determinar el índice gonadosomático de los diferentes grupos de peces tratados con estradiol-17 β , 17 α -etinilestradiol y dietilestilbestrol a una temperatura elevada (34 °C) de cultivo durante el periodo de alevín.

7.- Materiales y métodos.

7.1.- Área de estudio.

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del laboratorio de acuicultura y la unidad experimental de producción acuícola (UEPA), ambos pertenecientes a la Universidad del Papaloapan (UNPA) en el Campus Loma Bonita.

7.2- Reproductores y obtención de desoves.

Se utilizó un grupo de reproductores de 12 a 14 meses de edad aproximadamente, compuesto por 12 hembras (300-350 g) y 6 machos (450-600 g). Los machos que se emplearon son producto de la cría selectiva realizada en la Universidad del Papaloapan, mientras que las hembras provienen de una granja local (SISCOIN) y han sido aclimatadas a las condiciones de la UEPA. Se alimentaron diariamente con alimento comercial (Nutripec, Agribrands®, Purina 32 % de proteína) de acuerdo a su etapa de desarrollo y requerimiento.

Los reproductores seleccionados se distribuyeron en 2 estanques exteriores de ferrocemento de 3 m de diámetro, adicionados con agua verde. La proporción que se utilizó es de 2 hembras por cada macho. Los alevines se obtuvieron, aproximadamente de 14 a 18 días después de haber iniciado el periodo de reproducción, reduciendo el volumen del tanque mediante sifoneo y colectando los alevines con una malla fina.

7.3.- Alimento hormonado.

Para el proceso de feminización se utilizó alimento comercial tipo harina (Nutripec, Agribrands Purina®, México) con un porcentaje de proteína de 53 %. La hormona se adicionó al alimento siguiendo el método descrito por Guerrero (1975) (Fig. 1), en el cual se utilizó el alcohol etílico como vehículo. Se utilizaron 3 tratamientos (hormonas) distintos,

estradiol-17 β , 17 α -etinilestradiol y dietilestilbestrol, a una sola concentración (120 mg kg⁻¹). El alimento se preparó de la siguiente manera; se pesaron 120 mg de cada una de las hormonas utilizando una balanza analítica y posteriormente se diluyó cada hormona en 500 mL de alcohol etílico. Una vez disuelta la hormona, esta fue incorporada a un kg de alimento comercial mediante un atomizador de plástico de 500 mL. El alimento se dejó secar por aproximadamente 4 horas, antes de ser almacenado en un recipiente de plástico y apropiadamente etiquetado.



Figura 1. Aplicación de la hormona al alimento mediante un atomizador, utilizando alcohol etílico como vehículo.

Se contó con un grupo control, al cual se le proporcionó el mismo tipo de alimento, con excepción de la hormona. Los alevines se alimentaron durante el tratamiento hormonal aproximadamente al 20 % de su peso corporal diario, repartido en 11 raciones durante 17 días. Antes de distribuir el alimento hormonado (5 minutos), se cerró el paso del flujo de agua de cada acuario, para evitar la pérdida de alimento (a través del tubo de desagüe) y reforzar con esto la alimentación.

7.4.- Alevines

Los alevines obtenidos fueron colectados y transferidos al laboratorio de Acuicultura, el cual cuenta con 12 acuarios de acrílico de 85 L de capacidad (Fig. 2), conectados a un sistema de recirculación cerrado compuesto por dos filtros, uno mecánico y un bio-filtro compuesto enteramente de bio-bolas, así como una lámpara de luz UV. Los alevines fueron sembrados a una densidad aproximada de 0.7 alevines/L (60 organismos por acuario).



Figura 2. Sistema de recirculación cerrada en el que se llevó la reversión sexual.

Una vez sembrados los alevines, la temperatura del agua se incrementó por medio de calentadores para acuarios de 200 watts de 27 °C a 34 °C en 24 horas aproximadamente. El experimento tuvo una duración de 17 días. Se manejó un fotoperiodo de 12 L: 12O. Cada 10 días se colectó aproximadamente el 20 % del total de alevines en cada acuario para registrar el peso húmedo promedio por medio de una balanza electrónica y la longitud total por medio del análisis de una fotografía digital tomada de los alevines. Para esto, se utilizó un software para el análisis de imágenes (ImageJ ®) (Fig. 3). Todos los tratamientos se llevaron a cabo por triplicado.



Figura 3. Ejemplo de una imagen procesada en el programa ImageJ, aquí se observan los trazos realizados a los peces durante su medición.

Una vez finalizado el tratamiento hormonal, la temperatura del agua se redujo aproximadamente 1 °C cada dos horas hasta llegar a 27 °C. Los alevines se alimentaron con una mezcla de harina al 53 % de proteína sin hormona y con alimento comercial al 50 % de proteína tipo migaja de acuerdo a su etapa de crecimiento.

7.5.- Etapa de juveniles

Una vez finalizada la etapa de crecimiento en los acuarios, los pre-juveniles fueron sembrados en tanques de ferrocemento de 3 m de diámetro adicionados con agua verde (Fig. 4). Se mezclaron las tres réplicas de cada tratamiento en un solo tanque individual. Se aplicó aireación por las noches mediante un blower de 1 hp. Durante esta etapa se proporcionó alimento comercial al 50 % de proteína (< 1.0 mm migaja) seguido de alimento con 44 % de proteína de 1.5 mm, para posteriormente proporcionarles pellets de 2.4 mm al 40 % de proteína y finalmente pellets de 3.5 mm al 25 % de proteína. Lo anterior se realizó siguiendo el protocolo establecido por Purina® (Agribands, Purina México) para la tilapia del Nilo. La evaluación del peso húmedo y longitud total se llevó a cabo cada 21 días, en aproximadamente el 30 % del número total de individuos por cada tratamiento.

7.6.- Evaluación de la proporción de sexos e índice gonadosomático (IGS).

Para evaluar la proporción de sexos obtenida en cada uno de los tratamientos, se analizó la forma de la papila genital de 60 individuos de cada tratamiento, utilizando azul de metileno al 1 % para facilitar dicho proceso. Adicionalmente, se sacrificó al pez para extraer la gónada (Fig. 5), la cual fue pesada utilizando una balanza digital, para después realizar una observación macroscópica de la misma. Por último, se obtuvo el IGS mediante la fórmula propuesta por Sturm (1978).

$$\text{IGS} = (\text{Wg}/\text{Wt}) \times 100$$

Dónde:

IGS = índice gonadosomático.

Wg = peso de la gónada.

Wt = peso total del organismo.



Figura 4. Sistema de estanques de ferrocemento de 3 m de diámetro adicionada con agua verde.

7.7.- Supervivencia

La supervivencia final se obtuvo contando el número total de individuos por tratamiento al final del experimento y restando ese número al número inicial de individuos sembrados en cada tratamiento. Se llevó un registro preciso del número de organismos muertos durante el desarrollo del experimento.



Figura 5. Gónadas de los peces sacrificados en las que se puede observar las diferencias entre ambos sexos (hembra, presencia de oocitos de tono amarillo; macho, de color crema con líquido seminal).

7.8.- Análisis de datos

Para analizar los datos obtenidos se dividió el experimento en dos etapas. Para la etapa de alevín se aplicó un análisis de varianza de una vía con ayuda del software Statistica® (versión 7), con un nivel de significancia de 5% ($P < 0.05$), para analizar el peso húmedo, longitud total y supervivencia obtenidos. Para la etapa juvenil y de engorda, se realizó una prueba de medidas repetidas (prueba T) para analizar el peso húmedo y la longitud total obtenidos. La proporción de sexos observada entre tratamientos fue comparada, utilizando

una prueba de ji cuadrada, contra la proporción de sexos esperada para una población normal de tilapia del Nilo (50-50). El índice gonadosomático obtenido fue transformado utilizando la función arcoseno y se analizó para normalidad (por medio de una prueba de Kolmogórov-Smirnov) y homocedasticidad (mediante la prueba de Levene). Por último, se utilizaron los promedios de peso húmedo y longitud total que se obtuvieron en las biometrías para elaborar gráficas comparativas en cada tratamiento utilizando el programa SigmaPlot versión 12.5.

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 contenidos en la Figura 6 (A.- Peso húmedo, B.-Longitud total). Todos los tratamientos se iniciaron con alevines del mismo peso y longitud. Se observaron diferencias significativas en el peso húmedo a partir de la segunda biometría, con el grupo alimentado con 17α -etinilestradiol arrojando los valores significativamente más altos ($P < 0.05$) en comparación con el grupo control y los grupos alimentados con estradiol- 17β y dietilestilbestrol. En la tercer biometría el grupo control registró los valores significativamente más altos ($P < 0.05$) en comparación con los observados en los grupos alimentados con hormonas. Entre los grupos tratados, se registraron diferencias significativas ($P < 0.05$), con el grupo alimentado con DES arrojando valores significativamente más elevados en comparación con el grupo alimentado con estradiol- 17β . No se observaron diferencias significativas entre el grupo alimentado con 17α -etinilestradiol y los grupos alimentados con estradiol- 17β y DES (Figura 6A).

Con respecto a la longitud total, no se observaron diferencias significativas en la primera biometría. De igual forma no se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la segunda biometría entre el grupo control y los grupos alimentados con 17α -etinilestradiol y dietilestilbestrol. El grupo alimentado con estradiol- 17β arrojó los valores significativamente más bajos ($P < 0.05$) en comparación con el grupo control y los grupos alimentados con estradiol- 17β y dietilestilbestrol. Para la tercer biometría se registraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el grupo control y los grupos alimentados con

hormonas, con el grupo control arrojando los valores significativamente más elevados. No se observaron diferencias significativas entre los grupos alimentados con hormonas (Figura 6B).

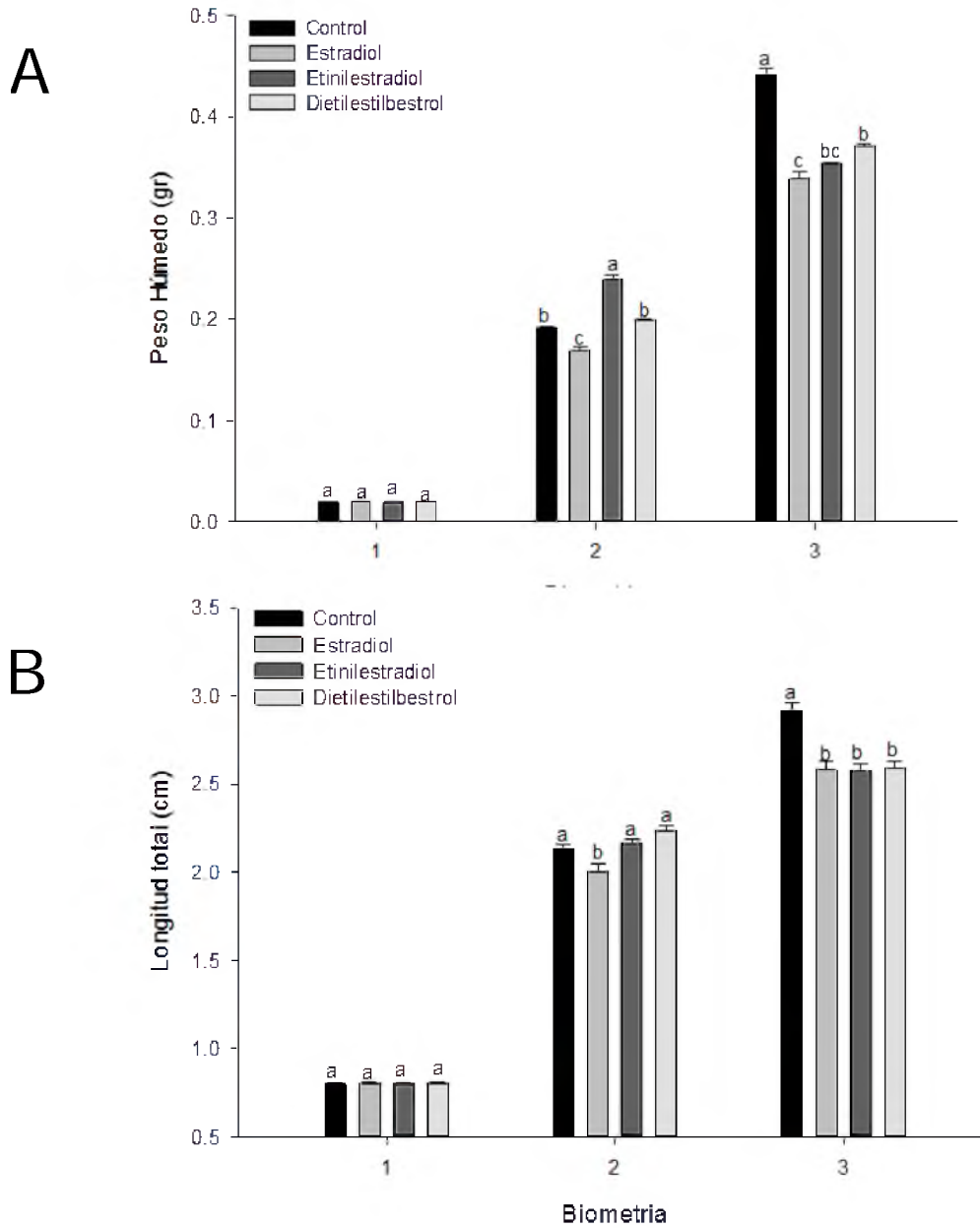


Figura 6. A - Peso Húmedo, B.- Longitud total obtenida durante el periodo de alevín en la tilapia de Nilo. La presencia de superíndices con diferente letra sobre las columnas indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada biometría ($P < 0.05$).

8.2 Periodo juvenil y de engorda

Los resultados obtenidos para el peso húmedo durante el periodo juvenil se encuentran contenidos en la Figura 7 (A.- Peso húmedo, B.- Longitud total). Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) para el peso húmedo en todas las biometrías realizadas. En la primer biometría el grupo alimentado con DES registró los valores significativamente más elevados en comparación con el grupo control y los grupos alimentados con estradiol-17 β y 17 α -etinilestradiol. No se observaron diferencias entre el grupo control y el grupo alimentado con 17 α -etinilestradiol. En la segunda biometría se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el grupo control y los grupos alimentados con hormonas, con el grupo control arrojando valores significativamente menores en comparación con los tres grupos hormonados. No se registraron diferencias entre los grupos tratados. El grupo alimentado con 17 α -etinilestradiol registró los valores de peso húmedo significativamente ($P < 0.05$) más elevados, tanto, en la biometría tres, como en la biometría final. Los valores significativamente más bajos fueron observados, de igual forma en ambos casos, en el grupo control (Figura 7A). Al igual que para el peso húmedo, los valores obtenidos para la longitud total mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en todas las biometrías realizadas. Los valores significativamente más bajos de longitud total se observaron de forma consistente a lo largo del periodo en el grupo control en comparación con los grupos alimentados con hormonas. Entre los grupos alimentados con hormonas, el grupo alimentado con 17 α -etinilestradiol fue el que registró los valores significativamente más elevados en la biometría tres y en la biometría final. No se observaron diferencias

significativas entre los grupo alimentados con dietilestilbestrol y estradiol-17 β a lo largo del periodo, con excepción de la biometría tres (Figura 7B).

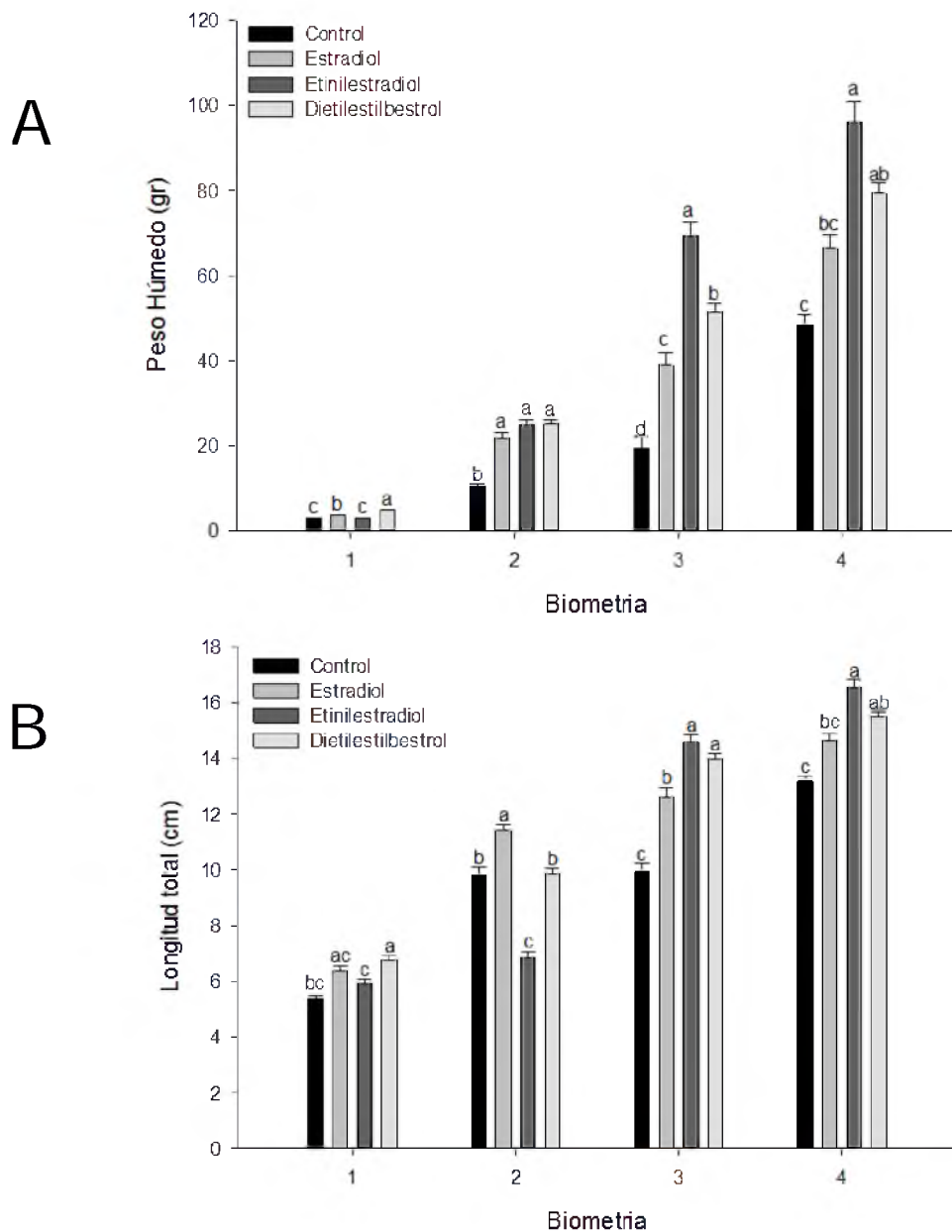


Figura 7.A- Peso húmedo, B.- Longitud total obtenida durante el periodo juvenil y engorda en la tilapia de Nilo. La presencia de los superíndice sobre las columnas indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada biometría ($P < 0.05$).

8.3 Supervivencia, evaluación de la proporción de sexos e IGS

Los resultados obtenidos de la supervivencia, la evaluación de la proporción de sexos y el índice gonadosomático se encuentran contenidos en el Cuadro 2. Los grupos alimentados, tanto con la hormona natural estradiol-17 β , como con las hormonas sintéticas 17 α -etinilestradiol y dietilestilbestrol, mostraron una proporción de hembras que se desvía significativamente ($P < 0.001$) de la proporción de sexos esperada (1:1). Sin embargo, solo se obtuvo 100% de feminización en el grupo alimentado con 17 α -etinilestradiol. En el grupo control y el grupo alimentado con dietilestilbestrol fue posible observar la presencia de organismos indiferenciados (inmaduros gonadalmente). No se observaron diferencias significativas para el índice gonadosomático entre el grupo control y los grupos alimentados con hormonas.

Cuadro 2. Porcentaje de supervivencia (S), proporción de sexos e índice gonadosomático (IGS) obtenido en adultos de tilapia de Nilo *Oreochromis niloticus* alimentadas con diferentes tipos de estrógenos y cultivados a 34 ± 0.5 °C durante el periodo de alevín.

Dosis Hormonal mg Kg ⁻¹	NPA*	S (%)	Proporción de sexos (%)			IGS
			Macho	Hembra	Indiferenciado	
Control	60	88	57	42	1	0.76 \pm 0.18 ^a
Estradiol-17 β	60	64	20	80 ¹	0	0.63 \pm 0.12 ^a
17 α -Etinilestradiol	37	45	0	100 ¹	0	0.96 \pm 0.20 ^a
Dietilestilbestrol	60	62	0	98 ¹	2	0.87 \pm 0.17 ^a

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

9.-DISCUSION

La feminización de alevines XY es una de las etapas críticas durante la producción de machos YY. La generación e identificación de hembras XY asegura la producción de un adecuado número de machos YY.

Aunque la feminización, al igual que la masculinización es alcanzada principalmente a través de la adición de hormona al alimento que es proporcionado durante las etapas tempranas del periodo de alevín (Piferrer, 2001), el uso de la temperatura para lograr la reversión sexual es una alternativa que se ha venido desarrollando en los últimos años, como una estrategia que contribuya aún más a reducir del uso de hormonas en el cultivo comercial de la tilapia.

Feminización.

La aplicación de temperatura específicas durante el periodo de alevín ha sido considerada una opción para revertir el sexo, desde que se descubrió que 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, especialmente la temperatura de cultivo durante el periodo de alevín (Wang y Tsai, 2000; Baroiller *et al.*, 2009).

Generalmente es aceptado que temperaturas elevadas tienen efectos masculinizantes en la tilapia del Nilo. Wang y Tsai (2000) reportan que temperaturas por arriba de 32 °C incrementarían la producción de reductasa y/o un receptor andrógeno que en turno

produciría una masculinización de las gónadas, mientras que temperaturas frías (21 °C) incrementarían la producción de aromatasa y/o un receptor de estrógenos que en turno produciría una feminización de las gónadas.

En experimentos realizados previamente en nuestro laboratorio por Lázaro-Velasco (2014), utilizando una temperatura fría (21.5 °C) y las tres hormonas a la misma concentración utilizada en nuestro trabajo, se obtuvo una tasa de feminización del 100% en prácticamente todos los tratamientos (incluido el grupo control), en comparación con la temperatura normal de cultivo (27 °C), la cual registró una tasa de feminización máxima del 91 % utilizando dietilestilbestrol, la hormona más potente en teoría. Lo anterior concuerda con lo reportado por Wang y Tsai (2000). Es probable que en este caso una mayor producción de la enzima aromatasa estimulada por la temperatura de cultivo resultara en un mayor sustrato hormonal transformado en un estrógeno funcional, el cual, en conjunto con el estrógeno administrado oralmente, resultarían en un efecto feminizador más potente sobre las gónadas.

En nuestro trabajo se utilizó el mismo lote de reproductores (machos y hembras), por lo cual la sensibilidad a la temperatura observada a temperaturas frías era factible a temperaturas calientes. Tomando en cuenta dicha sensibilidad y considerando el efecto antagónico sobre la proporción de sexos que presentan las hormonas "feminizantes" empleadas y la temperatura "masculinizante" de cultivo, los porcentajes de feminización a obtenerse en este caso no eran predecibles, ya que podrían haber sido influenciados mayormente por la temperatura o bien por las hormonas. Lo anterior hace muy interesante el presente trabajo, ya que arroja luz sobre la compleja interacción entre el sistema de

determinación sexual de la tilapia del Nilo y los factores ambientales, en este caso la temperatura.

La proporción de sexos obtenida en los grupos alimentados hormonalmente no mostró los efectos masculinizantes de la temperatura empleada. Solo el grupo control arrojó una proporción de machos ligeramente superior al 50 %, el cual es lo esperado en la tilapia del Nilo a temperaturas normales de cultivo (27 °C). Lo anterior nos indica que la temperatura empleada no fue lo suficientemente elevada para inducir una mayor producción de machos en el grupo control. Porcentajes similares de machos han sido obtenidos en nuestro laboratorio y por Contreras-Sánchez (2001) empleando temperaturas de 28 a 29 °C. Es posible que para inducir un mayor porcentaje de machos sea necesario elevar la temperatura de cultivo por encima de los 34 °C. A este respecto Wang y Tsai (2000) reportan que temperaturas de 36 a 38 °C han sido empleadas para obtener altos porcentajes de machos en la tilapia del Nilo. En el presente trabajo, debido al diseño del sistema de recirculación empleado, solo fue posible alcanzar una temperatura máxima de 34 °C.

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

literatura para la tilapia del Nilo a concentraciones hormonales similares; 66 % para estradiol-17 β , 90 % para el 17 α -etinilestradiol y finalmente 87 % para el dietilestilbestrol (Potts y Phelps, 1995; Hamdoon *et al.*, 2013).

Una sensibilidad diferencial hacia temperaturas frías de cultivo por parte del grupo de reproductores empleado podría explicar por qué la temperatura empleada no fue lo suficientemente fuerte para inducir una elevada masculinización y los elevados porcentajes de feminización observados. A este respecto Baroiller *et al.* (2009) reportan que un claro efecto parental con respecto a la termosensibilidad con una influencia de ambos padres ha sido demostrado a nivel individual. Es decir, que tanto los machos como las hembras utilizadas pueden ser los responsables de la sensibilidad observada en los porcentajes de feminización. Lo anterior no aplica necesariamente para ambos tipos de temperaturas (frías y calientes), por lo cual la termosensibilidad mencionada puede ser solo para un tipo de temperaturas. Es importante recordar que aunque la enzima aromatasa es parte central de esta sensibilidad, diferentes mecanismos enzimáticos toman lugar para cada tipo de temperatura (Wang y Tsai, 2000).

En relación con lo anterior, Wang y Tsai (2000) sugieren que el periodo de acción (lábil) para lograr la feminización de la gónada mediante bajas temperaturas es antes de los 10 días de edad del alevín, mientras que elevadas temperaturas actúan induciendo la masculinización de la gónada después de los 10 días de edad. Lo anterior ilustra el papel de diferentes mecanismos enzimáticos y genéticos para feminizar o masculinizar la gónada en la tilapia del Nilo. En nuestro caso, el periodo experimental, tuvo una duración de 17 días, lo cual es suficiente tiempo para lograr una adecuada reversión sexual en la tilapia del Nilo.

Supervivencia.

En el presente experimento fue posible observar un descenso de la supervivencia en los grupos expuestos al tratamiento hormonal. Piferrer (2001) reporta que la aplicación de estrógenos puede afectar negativamente la supervivencia en una gran cantidad de especies de teleósteos, en especial si cierto límite (que depende de cada especie) es sobrepasado. A este respecto, Shved *et al.* (2009) reporta que los estrógenos pueden inhibir el sistema local endócrino y autocrino/paracrino del factor de crecimiento I parecido a la insulina (IGF-I), lo cual puede interrumpir el crecimiento y la diferenciación del bazo de manera casi permanente y por lo tanto interferir con la capacidad del sistema inmune de combatir las infecciones. Esto puede explicar la reducción de la supervivencia observada en los grupos alimentados con hormonas en comparación con el grupo control. Sin embargo, es importante señalar que la supervivencia obtenida en el grupo control, fue ligeramente más baja (88 %) si la comparamos con la supervivencia normalmente obtenida en experimentos previos llevados a cabo en nuestro laboratorio (> 95%). Es probable que el descenso observado haya sido causado por la elevada temperatura de cultivo durante el periodo de alevín (34 °C).

Es posible que se haya presentado un efecto aditivo entre varios factores, entre los que se encuentran; la hormona administrada, la técnica de crianza utilizada y las variables ambientales, en especial la temperatura. Como es sugerido por Shved *et al.* (2009), es factible que la hormona haya hecho más susceptibles a los alevines a estos factores, incrementando la mortalidad observada a lo largo del periodo experimental. La supervivencia de alevines, ya sensibles inmunológicamente debido a la acción de la hormona, pudo haberse visto comprometida, por la elevada temperatura de cultivo.

Crecimiento.

Algunos esteroides sintéticos han demostrado ser agentes promotores del crecimiento cuando son administrados en bajas concentraciones. Sin embargo, un descenso del crecimiento inducido por una exposición a estrógenos sintéticos, ha sido reportado en varias especies de peces, especialmente al incrementar la dosis utilizada (Piferrer, 2001). A este respecto, Ridha y Lone (1995) reportan que los estrógenos no muestran por lo general un efecto anabólico en la mayoría de los teleósteos. A pesar de lo anterior, en nuestro experimento se observó un mejor crecimiento (peso húmedo y longitud total) en los grupos alimentados con estrógenos, en especial con los de naturaleza sintética, etinilestradiol y dietilestilbestrol. Sin embargo, es probable que el mayor crecimiento observado sea resultado de la reducción en la supervivencia registrada en los grupos alimentados con estrógenos, en lugar de un efecto anabólico de los esteroides suministrados.

La menor densidad poblacional resultado de la mayor mortalidad en los estanques de cultivo de los grupos alimentados con estrógenos, en especial en el grupo alimentado con 17α -etinilestradiol, junto con una alimentación inadecuada (excesiva, tomando en cuenta el número de peces) pudo haber maximizado el crecimiento final obtenido en estos grupos. Lo anterior se ve reforzado por el hecho de que el grupo control, el grupo con mayor densidad poblacional, fue el que registró el menor crecimiento, y por el hecho de que experimentos previos realizados en la tilapia del Nilo por Lázaro-Velasco (2014) y Marín-Ramírez (2014) arrojaron un menor crecimiento en los grupos alimentados con hormonas en comparación con el grupo control.

Índice gonadosomático (IGS).

El valor del IGS es importante durante el desarrollo del cultivo, ya que es un indicador de la madurez sexual del pez y por consiguiente de su estado de salud y nutricional. Estudios recientes han observado que una exposición continua a esteroides, en especial sintéticos, puede inducir un deterioro en el desarrollo gonadal, basado en la reducción observada del IGS, así como en los cambios morfológicos e histológicos sufridos por las gónadas de los peces expuestos a la hormona (Linderoth *et al.*, 2006; Marchand *et al.*, 2008; Louiz *et al.*, 2009).

En lo que respecta a nuestro estudio, no se observaron diferencias significativas entre el IGS del grupo control y aquel de los grupos alimentados con estrógenos, ya sean naturales o sintéticos; estos resultados concuerdan con lo reportado por Lázaro-Velasco (2014) en la misma especie. En este caso el autor empleó las tres hormonas utilizadas en el presente trabajo a la misma concentración. Sin embargo, aunque no se observaron diferencias significativas en el presente trabajo, se observó que los grupos alimentados con 17α -etinilestradiol y dietilestilbestrol registraron los valores más altos de IGS, lo cual probablemente está relacionado con el mayor crecimiento registrado como resultado de una menor densidad poblacional, en comparación con el grupo control. Peces más grandes presentarán gónadas más desarrolladas, enmascarando posiblemente el efecto de las hormonas empleadas. Adicionalmente, Zhong *et al* (2005) en el minnow chino (*Gobiocypris rarus*) observó una relación entre el crecimiento y el IGS ya que se detectó una reducción del IGS en grupos expuestos a dietilestilbestrol, así como una reducción general en el crecimiento, resultando en un peso corporal y una longitud del cuerpo más pequeños en

comparación con el grupo control. Resultados similares han sido reportados por Marín-Ramirez (2014) en la tilapia del Nilo.

10.- CONCLUSIONES

- a.- La progenie del grupo de reproductores empleado no mostró una tendencia clara hacia la masculinización de las gónadas a una temperatura de 34 °C.
- b.- La acción de los estrógenos suministrados contrarrestó el potencial efecto masculinizador de la temperatura empleada. Lo anterior dado por los elevados porcentajes de feminización obtenidos con las tres hormonas empleadas.
- c.- La progenie de la tilapia del Nilo alimentada con la hormona 17 α -etinilestradiol presentó un mayor crecimiento provocado por una menor densidad poblacional en los estanques resultado de una mayor mortalidad durante el periodo de crecimiento.
- d.- La supervivencia de los individuos alimentados con estrógenos se ve reducida, probablemente a causa de un decremento en la capacidad del sistema inmune para combatir infecciones.

11.- RECOMENDACIONES

- a.- Elevar la temperatura de cultivo de 36 a 38 °C para obtener una idea más clara de la interacción entre la temperatura de cultivo y las hormonas estrógenas.
- b.- Mejorar la distribución de los grupos con elevada mortalidad para reducir el sesgo a la hora de obtener los valores de peso húmedo y longitud total.
- c.- Acompañar este tipo de experimentos con la medición de hormonas y enzimas (en especial la aromatasa) durante el periodo de alevín. Lo anterior con el objetivo de describir con mayor precisión la interacción de la temperatura y las hormonas exógenas proporcionadas.
- d.- Realizar análisis bioquímicos a los peces al terminar el periodo de crecimiento para determinar cambios bioquímicos en músculo como resultado de la temperatura de cultivo y/o las hormonas estrógenas empleadas.
- e.- Realizar un análisis macroscópico más detallado del número de malformaciones gonadales observadas en los grupos alimentados con estrógenos.

12.- LITERATURA CITADA.

- Alcántar-Vázquez, J.P., Santos-Santos, C., Moreno-de la Torre, R. y Antonio-Estrada, C. 2014a. 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., Moreno-de la Torre, R., Calzada-Ruíz, D. y Antonio-Estrada, C. 2014b. Production of YY-male of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) from atypical fish. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(3): 644-648.
- Arboleda-Obregón, D.A. 2005. Reversión Sexual de las Tilapias Rojas (*Oreochromis Sp*), una guía básica para el acuicultor. *Revista Electrónica de Veterinaria, REDVET*. Vol. VI, No 12. 1-5.
- Arias-Rodríguez, L. y Parámo-Delgadillo, S. 2001. Biotecnología Cromosómica en Peces. Producción de peces Ginogenéticos, Androgenéticos y clones. *kuxulkab' Revista de divulgación*, 12: 1-13.
- Arredondo, F.J.L. y Lozano, G.S. 1996. Cultivo de tilapia en México. Pp 7-18. *Memorias del primer curso Internacional de producción de tilapia*. División de educación continúa UNAM.
- Azaza, M. S., Dhraief, M. N., & Kraiem, M. M. 2007. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. *Journal of thermal Biology*, 33(2), 98-105.
- Baroiller J. F., D´Cotta H, Saillant E., Wessels, S. y Hoerstegen- schawark, G. 2009. Tilapia sex determination: where temperatura and genetics meet. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A. Molecular and Integrative Physiology*, 153(1): 30-8.

- Blázquez, M., Zanuy, S., Carillo, M., Piferrer, F. 1998. Structural and functional effects of early exposure to estradiol-17 β and 17 α -ethynylestradiol on the gonads of the gonochoristic teleost *Dicentrarchus labrax*. *Biochemistry and Physiology*, 18: 37-47.
- Beardmore, J.A., Mair, G.C. y Lewis, R.L. 2001. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects. *Aquaculture*, 197: 283-301.
- CONAPESCA. 2005. Comisión Nacional de la Acuicultura y la pesca. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2005. Disponible en <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona>.
- CONAPESCA. 2011. Comisión Nacional de la Acuicultura y pesca. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2011. Disponible en <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona>.
- Contreras-Sánchez, W.M., Marquez-Couturier, G., Feist, G., Hernandez-Franyutti, A., Schreck, C.B. y Giannico, G. 2004. Diversification of aquacultural practices by incorporation of native species and implementation of alternative sex inversión techniques. In: Harris, I., Couter, N., Eгна, H., Twenty first Annual technical reports. *Aquaculture CRSP*, 31: 189-195.
- Daza, V. P., Parra, L. y Ochoa, S. 2005. Reproducción de los peces del trópico. Universidad Nacional de Colombia. INCODER. 241 p.
- Desprez, D., Melard, C. y Philippart, J.C. 1995. Production of a high percentage of male offspring with 17 alfa-ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. II. Comparative reproductive biology of females and F2 pseudofemales and large-scale production of male progeny. *Aquaculture*, 130: 35-41.

- Desprez, D. y Melard, C. 1998. Effect of ambient water temperatura on sex determination in the blue Tilapia *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*. 162: 79-84
- FAO, 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Tomado de fisheries global information system (FIGIS). Disponible en <http://www.fao.org/fisheryes/figis/es>
http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es.
- Foyle, T. P. 1993. A histological description of gonadal development and sex differentiation in the coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) for both untreated and oestradiol immersed fry. *Journal of Fish Biology*, 42: 699-712.
- Guerrero, R. 1975. Use of androgens for the production of all-male tilapia aurea (Steindachner). *Transactions of the American Fisheries Society*, 2:342-348.
- Hackmann, E y Reinboth, R. 1974. Delimitation of the critical stage of hormone-influenced sex differentiation in *hemihaplochromis multicolor* (Hilgendorf) (Cichlidae). *General and Comparative Endocrinology*, 22(1): 42-53.
- Hamdoon, N. T., Ibrahim, F., Kelany, A. M., Hanan, F. Elshazly, y Zayed, A. E. 2013. Hormonal sex reversal in *Oreochromis niloticus* by oral administration of diethylstilbestrol. *Life Science Journal*, 10(2): 123-128.
- Hurtado, T.N. 2005. Inversión sexual en tilapias. Revisión bibliográfica. INH, Ingenieros Consultores. Lima, Perú. 43 p.
- Jiménez, B. M. L. y Arredondo, F.J.L. 2000. Manual Técnico para la reversión sexual de tilapia. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México, D.F. 36 p.

- Karayücel, I., Penman, D., Karayücel, S. y McAndrew, B. 2003. Thermal And Hormonal Feminization Of All Male YY Nile tilapia, *Oreochromis Niloticus*. The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh, 55(2): 114-122.
- Kwon, J.Y., Mcandrew, B.J. y Penman, D.J. 2002. Treatment with an aromatase inhibitor suppresses high-temperature feminization of genetic male (YY) Nile tilapia. Journal of Fish Biology, 60: 625-636.
- Lázaro-Velasco, A. 2014. Efecto de la temperatura y hormonas exógenas en el desarrollo de la tilapia del Nilo. Tesis licenciatura, Instituto Tecnológico de la Cuenca del Papaloapan. 78 p.
- 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-Attia, M. y Ben-Hassinea, O. 2009. Gonadosomatic index and gonad histopathology of *Gobius niger* (Gobiidea, Teleost) from Bizerta lagoon (Tunisia): Evidence of reproduction disturbance. Fisheries Research, 100: 266-273.
- Marchand, M. J., Pieterse, G. M. y Barnhoorn, I. J. 2008. Preliminary results on sperm motility and testicular histology of two feral fish species, *Oreochromis mossambicus* and *Clarias gariepinus*, from a currently DDTsprayed area, South Africa. Journal of Applied Ichthyology, 24(4): 423-429.

- Marín-Ramírez, J.A. 2014. Evaluación de la hormona dietilestilbestrol en la diferenciación sexual, índice gonadosomático y tasa de crecimiento de la tilapia de Nilo (*Oreochromis niloticus*). Tesis licenciatura, Universidad del Papaloapan. 61 p.
- Martínez, R.B.E. 2003. Comparación de la eficiencia de las hormonas fluoximesterona & 17 α -metil testosterona en la reversión sexual de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Tesis de licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 70 p.
- Mair, G.C., Abucay, J.S., Skibinski, D.O.F., Abella, T.A. y Beardmore, J.A. 1997. Genetic manipulation of sex ratio for the large scale production of all-male tilapia (*Oreochromis niloticus*). L. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 54: 396-404.
- Melard, C. 1995. Production of a high percentage of male offspring with 17 α -ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. I. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudofemales. Aquaculture, 130: 25-34.
- Müller, B.A. y Hörstgen-Scharwk, G. 2007. Development of an YY-male Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Strain and Growth Performance Testing of the Genetically All Male Progenies. DeutscherTropentag, October. pp. 5-7, 2004, Berlin.
- Piferrer, F., 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture, 197: 229-281.
- Potts, A. C. y Phelps, R. P. 1995. Use de diethylstilbestrol and ethynylestradiol to feminize Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) in an outdoor environment. Journal of applied ichthyology, 11(1-2): 111-117.

- Ridha, M. T. y Lone, K. P. 1995. Preliminary studies on feminization and growth of *Oreochromis spilurus* (Gunther) by oral administration of 17 α - ethinyloestradiol in sea water. *Aquaculture Research*, 26:475-482.
- Rosenstein, S. y Hulata, G. 1994. Sex reversal in the genus *Oreochromis*: optimization of feminization protocol. *Aquaculture and Fishery Management*, 25: 329-339.
- Shved, N., Berishvili, G., Häusermann, E., D'Cotta, H., Baroiller, J. F. y Eppler, E. 2009. Challenge with 17 α -ethinylestradiol (EE2) during early development persistently impairs growth, differentiation, and local expression of IGF-I and IGF-II in immune organs of tilapia. *Fish and Shellfish Immunology*. 26(3):524-530.
- Sturm, G.M. de L. 1978. Aspects of the biology of *Scomberomorus maculatus* (Mitchill) in Trinidad. *Journal of Fish Biology*, 13(2): 155-172.
- Torres Quevedo, E. 2008. Estado Actual de la Acuicultura. p. 8. www.acuiculturaldia.com/Documentos/Estado actual Acuicultura y Mercado.
- Van den Hurk, R., Slof, G. A. y Schurer, F. A. 1980. Gonadal sex differentiation in rainbow trout, *salmo gairdneri*, with special reference to effects of steroid hormones and N,N-dimethylformamide. *General and Comparative Endocrinology*, 40: 323.
- Varadaraj, K., y Pandian, T.J. 1989. First report on production of supermale tilapia by integrating endocrine sex reversal with gynogenetic technique. *Current Science* (Bangalore), 58: 434-441.
- Vidal, L. J. Contreras, S. W., Alvarez, G. A. Hernández, F. A. y Hernández, V. U. 2008. Técnicas de Reversión Sexual aplicadas en Acuicultura. *Kukulkab´*, 15(27): 49-54.

- Wang, L.H. y Tsai, C.L. 2000. Effects of temperatura on the deformity and sex differentiation of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, Journal of Experimental Zoology Part A. 286: 534-537.
- Yamamoto, T. 1969. Sex differentiation. En: Fish Physiology Vol. III, Reproduction and Growth, Bioluminescence, Pigments, and Poisons. pp. 117–175. Editado por: W.S. Hoar y D.J. Randall. Academic Press, New York.
- Zhong, X., Xu Y., Liang, Y, Liao, T. y Wang, J. 2005. The Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) as an in vivo model for endocrine disruption in freshwater teleosts: a full life-cycle test with diethylstilbestrol. Aquatic Toxicology, 71:85-95.