



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Campus Loma Bonita

LICENCIATURA EN ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN DE LA HORMONA 17α -ETINILESTRADIOL EN LA
DIFERENCIACION SEXUAL, CRECIMIENTO E ÍNDICE GONADOSOMÁTICO
DE LA PROGENIE DE HEMBRAS ATÍPICAS DE TILAPIA DEL NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN ZOOTECNIA

PRESENTA

VARINIA JUÁREZ JUÁREZ

ASESOR DE TESIS

DR. JUAN PABLO ALCÁNTAR VÁZQUEZ

LOMA BONITA, OAXACA, OCTUBRE DE 2015

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO GENERAL	3
2.1. Objetivos particulares	3
3. HIPÓTESIS	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1. Biología de la tilapia del Nilo	5
4.2. Técnicas para el control del sexo en la tilapia del Nilo	6
4.3. Feminización	9
4.3.1. Efectos de la feminización en las progenies revertidas	10
4.3.2. Uso de hormonas estrógenas sintéticas para feminizar	10
4.3.3. Hembras atípicas	11
5. MATERIALES Y MÉTODOS	13
5.1. Localización del experimento y clima	13
5.2. Tratamientos y diseño experimental	13
5.3. Variables evaluadas	13
5.4. Desarrollo del experimento	14
5.4.1. Reproductores	14
5.4.2. Preparación del alimento hormonado	14
5.4.3. Producción de alevines en condiciones experimentales	15
5.4.4. Crecimiento de juveniles en estanques de ferrocemento	17
5.4.5. Análisis de proporción de sexos	17
5.4.6. índice gonadosomático	18
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
7. RESULTADOS	19
7.1. Crecimiento durante el periodo alevín	19
7.2. Crecimiento durante el periodo juvenil y de engorda	21
7.3. Proporción de sexos e índice gonadosomático	22

8. DISCUSIÓN	25
8.1. Feminización	26
8.2. Crecimiento	27
8.3. Supervivencia	29
8.4. Índice gonadosomático	30
9. CONCLUSIONES	32
10. RECOMENDACIONES	33
11. LITERATURA CITADA	34
12. APÉNDICE	40

ÍNDICE DE CUADROS

Número	Título	Páginas
1	Porcentaje de supervivencia, proporción de sexos e índice gonadosomático en adultos de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con 17 α -etinilestradiol, a diferentes concentraciones durante el periodo de alevín	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Número	Título	Páginas
1	Peso húmedo de alevines de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con 17 α -etinilestradiol, a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático	19
2	Longitud total de alevines de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con 17 α -etinilestradiol, a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático	20
3	Peso húmedo durante el periodo juvenil y de engorda de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas con 17 α -etinilestradiol, a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático	21
4	Longitud total durante el periodo juvenil y de engorda de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas con 17 α -etinilestradiol, a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático	23

RESUMEN

La reversión sexual a través de hormonas exógenas, es la técnica más eficiente para obtener poblaciones monosexuales en la producción comercial de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Sin embargo, en los últimos años ha generado una opinión negativa por parte de consumidores, los cuales no desean ingerir alimentos tratados con hormonas, así como de grupos preocupados por la liberación de hormonas a través de los efluentes de los laboratorios de producción de alevines. Por tanto, se han desarrollado técnicas alternativas como la producción de machos YY, estos machos al cruzarse con hembras normales arrojan poblaciones compuestas por un 100 % de machos genéticos libres de hormonas. Sin embargo, la primera parte de la técnica requiere de la feminización de alevines con genotipo XY a través del uso de hormonas estrógenas, lo cual produce como resultado hembras XY o hembras atípicas. La feminización exitosa de la progenie de hembras atípicas (Hembras XY) podría garantizar la producción de hembras YY y hembras XY. Estos dos tipos de hembras permitirían mantener un flujo constante de reproductores machos YY. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de cuatro concentraciones de la hormona sintética 17 α -etinilestradiol: 100, 200, 300, 400 mg kg⁻¹ administradas oralmente durante el periodo de alevín en la proporción de sexos, crecimiento e índice gonadosomático (IGS) de progenies de hembras atípicas de tilapia del Nilo. Los tratamientos se realizaron por triplicado. No se observó un descenso drástico en la supervivencia 17 α -etinilestradiol por la aplicación de altas concentraciones de 17 α -etinilestradiol. Solamente la concentración de 200 mg

Kg^{-1} mostró una supervivencia por debajo del 80 %. En cuanto al crecimiento no se observaron diferencias significativas en el peso húmedo o longitud total entre el grupo control y los grupos alimentados con 100, 200 y 300 mg Kg^{-1} de 17α -etinilestradiol. El peso húmedo y longitud total significativamente más bajos ($P<0.05$) fueron observados en la concentración de 400 mg Kg^{-1} . La proporción de hembras observada se desvió significativamente ($P<0.001$) de la proporción de hembras esperada para hembras atípicas (3 machos: 1 hembra) en todos los grupos alimentados con hormonas. Sin embargo, la mayor proporción de hembras (90 %) fue observada en el grupo alimentado con la concentración de 400 mg Kg^{-1} . El examen gonadal de los peces no mostró diferencias significativas en los valores del IGS entre el grupo control y los grupos alimentados con 100, 300 y 400 mg Kg^{-1} . El valor de IGS significativamente ($P<0.05$) más elevado fue obtenido por el grupo alimentado con la concentración de 200 mg Kg^{-1} . Incrementando la concentración de 17α -etinilestradiol proporcionada a través de la dieta es posible incrementar la proporción de hembras, sin embargo no se garantiza una feminización del 100 % en la progenie de hembras atípicas de tilapia del Nilo.

Palabras clave: Tilapia del Nilo, Hembras atípicas, Feminización, 17α -Etinilestradiol, Macho YY, Concentración.

ABSTRACT

Sex-reversal by exogenous hormones is the most efficient technique used to produce monosex populations in the commercial production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In recent years however, it has generated a negative opinion on the part of consumers who do not wish to ingest foods treated with hormones, and also groups concerned about the release of hormones through the effluent of fry production laboratories. Therefore, alternative techniques have been developed such as the production of YY-males. These males when crossed with normal females produce populations composed of 100 % free of hormones genetic males. However, the first part of this technique requires the feminization of fry with XY genotype through the use of estrogen hormones. As a result XY females or atypical females are obtained. The successful feminization of atypical female progeny could guarantee the production of YY-females and XY-females. These two types of females would help maintain a constant flow of YY-males. The aim of the study was to evaluate the effect of four concentrations of the synthetic hormone 17 α -ethinylestradiol: 100, 200, 300, 400 mg kg⁻¹ administered orally during the fry period, in the sex ratio, growth and gonadosomatic index (GSI) of the progeny of atypical female of Nile tilapia. The treatments were performed in triplicate. Survival not showed a dramatical decrease by the application of high concentrations of 17 α -ethinylestradiol. Only the concentration of 200 mg kg⁻¹ showed a survival below 80 %. No significant differences in wet weight or total length between the control group and the groups fed with 100, 200 and 300 mg kg⁻¹ of 17 α -ethinylestradiol were observed. The wet weight and total length was significantly lower (P<0.05) in the

concentration of 400 mg kg⁻¹. The proportion of females showed a significant (P<0.05) deviation in all groups fed hormones from the expected proportion for atypical females. However, the higher proportion of females (90 %) was observed in the group fed with the concentration of 400 mg kg⁻¹. Gonadal examination of fish showed no significant differences in the GSI values between the control group and the groups fed 100, 300 and 400 mg kg⁻¹. The value of IGS was significantly (P <0.05) higher in the group fed with the concentration of 200 mg kg⁻¹. Increasing the concentration of 17 α -ethinylestradiol provided through the diet may increase the proportion of females, however a 100 % feminization is not guaranteed in the progeny of atypical females of Nile tilapia.

Keywords: Nile tilapia, Atypical female, Feminization, 17 α -Ethinylestradiol, YY-Male, Concentration.

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la FAO la acuicultura es un rubro de alto impacto económico y social, el cual genera ingresos y ofrece alimento de alto valor nutricional, representando una fuente valiosa de proteínas y nutrientes esenciales para una nutrición equilibrada y disfrutar de buena salud (FAO, 2012). Lo anterior es posible, en parte, al incremento en la producción de tilapias, el cual se ha convertido en el segundo grupo de peces de mayor producción después de las carpas. Dentro de las tilapias, la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) representa más del 85 % de la producción a nivel mundial, mientras que las otras especies (*O. mossambicus*, *O. aureus*, *O. hornorum*) ocupan el 15 % restante (FAO, 2012).

En 2011 la producción mundial de tilapia alcanzo 3,957,949 ton, lo cual representó un crecimiento anual sostenido de 10.76 % en los últimos 10 años, siendo los mayores productores los países asiáticos como China, India e Indonesia, los cuales aportaron más del 50 % de la producción mundial, en su mayor parte por la acuicultura (FAO, 2012).

En México, la tilapia ocupa el quinto lugar en volumen de producción, con una producción para el año 2011 de 75,927 ton de peso vivo. Sin embargo, la tilapia cultivada por la acuicultura aportó más del 90 % de la producción nacional y se produce, principalmente, en los estados de Veracruz (15.23 %), Chiapas (12.16 %), Jalisco (10.11 %) y Tamaulipas (8.79 %). Lo anterior coloca a dicha especie como el tercer grupo de peces en valor económico generando un ingreso de 1,146,900 pesos y presentando un crecimiento anual de 1.44 % en los últimos 10 años (CONAPESCA, 2011).

En lo que respecta a la región del Papaloapan, según datos del anuario 2011 de SAGARPA, produce cerca de 12,186.8 ton, de los cuales 623 ton se produjeron en Oaxaca y 11,563.68 ton en Veracruz; así, la producción en la cuenca representa casi un 16 % del total en el país. Lo anterior denota la importancia de esta región en la producción de tilapia del Nilo. Por tanto, es necesario impulsar el consumo de tilapia en el mercado local y, principalmente, en lugares donde no es posible su producción, con el fin de que la población aproveche los beneficios que este pez aporta (SAGARPA, 2011).

2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de la hormona 17α -etinilestradiol administrado oralmente, durante el período de alevín, en la proporción de sexos, crecimiento e índice gonadosomático de progenies de hembras atípicas de tilapia del Nilo.

2.1. Objetivos particulares

Determinar el efecto de concentraciones crecientes de 17α -etinilestradiol administrado oralmente, durante el período de alevín, en la tasa de crecimiento de la progenie de hembras atípicas de la tilapia del Nilo.

Determinar el efecto de concentraciones crecientes de 17α -etinilestradiol administrado oralmente, durante el período de alevín, en la proporción de sexos de la progenie de hembras atípicas de la tilapia del Nilo.

Determinar el efecto de concentraciones crecientes de 17α -etinilestradiol administrado oralmente, durante el período de alevín, en el índice gonadosomático de la progenie de hembras atípicas de la tilapia del Nilo.

3. HIPÓTESIS

El empleo de la hormona 17α -etinilestradiol incrementa la proporción de hembras en la progenie de hembras atípicas de tilapia del Nilo, sin alterar negativamente el crecimiento e índice gonadosomático hasta alcanzar la madurez sexual.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Biología de la tilapia del Nilo

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 viven tanto en aguas dulces como saladas e incluso pueden acostumbrarse a aguas poco oxigenadas. Son especies aptas para el cultivo en zonas tropicales y subtropicales. Debido a su naturaleza, las tilapias, se adaptan con gran facilidad a ambientes cerrados como estanques, lagunas, reservorios y aceptan con facilidad diferentes tipos de alimento, tanto los que se producen naturalmente como los alimentos artificiales. La tilapia del Nilo, se ha convertido en una de las especies importantes de explotación gracias a sus características biológicas y facilidad de cultivo. En general, se considera una especie de alta rusticidad que genera altos rendimientos en producción, de rápido crecimiento, alta adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, fácil reproducción y alta resistencia a enfermedades, puede cultivarse con éxito a altas densidades tolerando bajas concentraciones de oxígeno y amplios intervalos de salinidad. Es una especie omnívora, aunque principalmente herbívora, lo cual la vuelve capaz de utilizar la productividad primaria de los estanques y por último, puede ser manipulada genéticamente (Jiménez y Arredondo, 2000).

Sin embargo, un problema generalizado durante su cultivo, es su alta precocidad reproductiva, la cual ocasiona sobrepoblación dentro de los estanques y, con ello, la aparición de enfermedades provocadas por el estrés y una disminución en la calidad del agua, en especial del oxígeno (Jiménez y Arredondo, 2000). Como en la mayoría de las especies cultivadas, la maduración gonadal representa un gasto energético que se ve reflejado en la disminución de la tasa de crecimiento, produciendo peces de tallas pequeñas con capacidad reproductiva y de tallas heterogéneas, además de provocar competencia por el alimento y reducir significativamente la calidad del agua dentro del estanque de cultivo, principalmente la concentración de oxígeno. En la tilapia del Nilo la reproducción puede iniciarse desde los tres meses de edad en condiciones favorables; la hembra incuba los huevos en la boca y una vez eclosionados los alevines los cuida por un tiempo adicional (incubadores bucales). Lo anterior ocasiona que los peces en crecimiento tarden mucho más tiempo en alcanzar una talla comercial, con lo que se incrementan significativamente los costos de producción de las granjas (Jiménez y Arredondo, 2000; Arboleda-Obregón, 2005; Daza *et al.*, 2005).

4.2. Técnicas para el control del sexo en la tilapia del Nilo

Para combatir el problema 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. A continuación se describen dichas estrategias:

a) Sexado manual. Consiste en separar a los machos y a las hembras, los cuales son cultivados en estanques separados, con una efectividad que va del 85 al 95 %; embargo, esta técnica requiere de una intensa labor y no garantiza poblaciones exclusivamente machos, ya que está sujeta a un alto grado de error debido a las características externas de la papila de cada individuo o apreciación visual y experiencia del personal quien la realiza (Jiménez y Arredondo, 2000; Daza *et al.*, 2005; Vidal *et al.*, 2010).

b) Introducción de depredadores. La carpa, la perca del Nilo, la lobina negra y la tenguayaca son especies carnívoras que se alimentan de las crías de las tilapias contribuyendo con esto a mantener bajo control la población en los estanques (Jiménez y Arredondo, 2000).

c) Cultivos a elevadas densidades o en jaulas flotantes. Retrasan la aparición de la maduración y hacen físicamente imposible la fertilización de los huevos por parte de los machos (Daza *et al.*, 2005).

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

e) Producción de peces estériles. Mediante la manipulación genética (haploides, triploides, poliploides). Es una alternativa factible, 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).

f) Reversión sexual. A través de hormonas exógenas ha sido reconocida por varias décadas 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 las hormonas se realiza antes de la diferenciación sexual de los alevines a través de dietas comerciales y permite obtener hasta un 99.8 % de machos (Jiménez y Arredondo, 2000; Daza *et al.*, 2005; Hurtado, 2005). Sin embargo, a pesar del éxito de esta técnica dentro de la industria de la tilapia, actualmente la utilización de hormonas para revertir el sexo se ha convertido en un tema controvertido, ya que existe una creciente preocupación por la acumulación de hormonas en los cuerpos de agua cercanos a las granjas, principalmente en zonas costeras (Leet *et al.*, 2011). Por otro lado, un número creciente de consumidores demanda una producción inocua y no están interesados en consumir productos que han sido tratados con hormonas o sustancias activas similares (Müller y Hörstgen, 2007).

Lo anterior ha ocasionado el desarrollo y aplicación en los últimos años de nuevas técnicas que requieren un uso reducido de hormonas y que sirvan como alternativas rentables a nivel comercial. Una de estas alternativas ha sido desarrollada con éxito en la tilapia azul y consiste en revertir machos por medio de un estrógeno administrado oralmente durante 40 días (Melard, 1995). Esta reversión produce pseudohembras (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 (Desprez *et al.*, 1995; Melard, 1995).

Otra de estas técnicas, consiste en el desarrollo de machos YY o "supermachos". Está técnica desarrollada, principalmente, en países de Europa

y el sureste de Asia (Filipinas), permite producir reproductores YY de tilapia del Nilo, que al cruzarlos con hembras normales (XX) permiten obtener poblaciones compuestas al 100 % por organismos genéticamente machos (XY) sin el uso de hormonas exógenas (Varadaraj, 1989; Vera *et al.*, 1996; Mair *et al.*, 1997). Sin embargo, aunque la técnica no requiere el uso de hormonas para producir poblaciones monosexo que son comercializadas (para su venta directa), 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 con genotipo XY se lleva a cabo, al igual que la masculinización, a través de la aplicación de hormonas exógenas 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 % (teóricamente) serán hembras XY (machos feminizados). Estas hembras al cruzarse con machos normales (XY) arrojarán una descendencia compuesta por un 75 % de machos y un 25 % de hembras normales (XX). Del 75 % de machos producidos, un 50 % tendrá un genotipo XY (machos normales) y un 25 % tendrá un genotipo YY (supermachos) (Mair *et al.*, 1997).

4.3. Feminización

La feminización directa por medio de hormonas estrógenas 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 de las técnicas disponibles, la más utilizada para feminizar de manera directa es a través del alimento proporcionado durante el período de alevín, ya que los resultados son más homogéneos y efectivos. Además, el alimento hormonado es comercialmente disponible, o bien, se puede preparar fácilmente.

4.3.1. Efectos de la feminización en las progenies revertidas. Es común observar en las progenies revertidas, ya sea por feminización o masculinización, alteraciones 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 (Marín, 2014) 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 candidata viable para ser elegida como reproductor. Lo anterior es ocasionado por los efectos de las hormonas estrógenas a nivel fisiológico, en especial a concentraciones elevadas

4.3.2. Uso de hormonas estrógenas sintéticas para feminizar. La feminización es una etapa crítica durante la producción de machos YY, ya que a diferencia de la masculinización que se encuentra bien establecida y con

frecuencia arroja porcentajes de machos cercanos al 100 % en varias especies, incluyendo la tilapia del Nilo, la feminización ha demostrado ser más complicada de lograrse al 100 %, especialmente con la progenie de hembras atípicas, por lo cual actualmente aún se están evaluando diferentes protocolos para optimizar la proporción de hembras obtenidas. Uno de estos protocolos, incluye el uso de hormonas estrógenas sintéticas, como es el 17α -etinilestradiol, el cual ha mostrado excelentes resultados en especies relacionadas, optimizando la proporción de hembras obtenidas, sin afectar el crecimiento o el desarrollo gonadal (índice gonadosomático) de manera significativa. Por lo tanto, evaluar su efecto a diferentes concentraciones en la tilapia del Nilo, es el siguiente paso con el objetivo de optimizar los porcentajes de hembras XY obtenidas.

4.3.3. Hembras atípicas. En la tilapia del Nilo podemos observar dos tipos de hembras atípicas. En el primer caso se encuentran hembras **XX** que producen progenies con proporciones de machos que se desvían de la proporción de sexos esperada (un macho por cada hembra, 50 % - 50 %). La desviación de la proporción esperada puede ser leve (> 60 %), moderada (> 70 %) o fuerte (> 80 %) y de acuerdo a Baroiller *et al.* (2009) se debe a los **factores que se encargan de controlar** la determinación del sexo en la tilapia del Nilo; un locus determinante principal (cromosomas sexuales), factores parentales menores (influencia genética de los progenitores) y factores ambientales, en este caso la temperatura del agua

Este tipo de hembras atípicas, por lo tanto, arrojan proporciones elevadas de machos debido a la interacción provocada por la cruce con machos

relacionados (factor parental) o bien por la presencia de una sensibilidad genética a una temperatura específica del agua, la cual en otras hembras (normales), simplemente no sería lo suficientemente alta para inducir una alteración en la proporción de sexos. Lo anterior produce en la progenie de las hembras atípicas una masculinización gonadal a temperaturas moderadas (Wang y Tsai, 2000), resultando en una mayor proporción de machos.

El segundo tipo de hembras atípicas, involucra a hembras revertidas o hembras XY, producidas mediante la reversión sexual (feminización) de alevines XY. La feminización de la progenie de este tipo de hembras atípicas no ha sido evaluada en la tilapia del Nilo; sin embargo, se ha mencionado que es más difícil conseguir una feminización exitosa en este tipo de hembras (Mair *et al.*, 1997). Aunque la feminización de hembras atípicas, por lo general, no es considerada como parte indispensable de la producción de machos YY, es importante evaluar la proporción de sexos que se obtiene al feminizar este tipo de hembras, no solo desde el punto de vista comercial, relacionado con la posible obtención de hembras XY y hembras YY, sino desde el punto de vista de generar conocimiento básicos. Debido a lo anterior, el presente trabajo se centra en feminizar la progenie de este tipo de hembras.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del experimento y clima

El trabajo se llevó a cabo en la unidad acuícola experimental de la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita, ubicada en el estado de Oaxaca, en las coordenadas 18° 06´ latitud norte y 95° 53´ longitud oeste, a una altura de 30 msnm (FAM, 2014). El clima del lugar es cálido húmedo, con lluvias abundantes en verano. La temperatura y precipitación anual promedio es de 25 °C y 1845.2 mm, respectivamente (FAM, 2014).

5.2. Tratamientos y diseño experimental

Se evaluaron cuatro concentraciones de la hormona 17 α -etinilestradiol: 100, 200, 300 y 400 mg kg⁻¹ de alimento y un grupo testigo de 0 mg kg⁻¹. Los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño de bloques al azar, con tres repeticiones. El sistema de crianza estuvo compuesto de 15 acuarios de vidrio con capacidad de 85 L de agua y los alevines se sembraron a una densidad de 1 alevín por litro de agua, bajo un sistema de circulación cerrada.

5.3. Variables evaluadas

Las variables evaluadas durante el desarrollo del presente experimento están relacionadas directamente con la aplicación de los estrógenos durante el periodo alevín. Estas fueron: crecimiento, peso húmedo, longitud total, supervivencia, índice gonadosomático y proporción de sexos.

5.4. Desarrollo del experimento

5.4.1. Reproductores. El grupo de reproductores utilizado fue creado en la Universidad del Papaloapan a partir de reproductores traídos del centro acuícola de Temazcal, Oaxaca y el Sistema Cooperativo Integral (SISCOIN, Veracruz). Los reproductores se alimentaron con pellets flotantes comerciales con 25 % de proteína (Purina, Agribrands®) dos veces al día.

Los reproductores de la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) fueron colocados en dos estanques de ferrocemento de 3 m de diámetro, con agua conteniendo microalgas, a una proporción hembra-macho de 3:1 y a una temperatura de 28 a 30 °C.

5.4.2. Preparación del alimento hormonado. Preparación de la solución madre. Se pesó 1 g de la hormona esteroide sintética 17 α -etinilestradiol utilizando una balanza analítica (Figura 2 del Apéndice) y se diluyó en 1,000 ml de alcohol etílico, utilizando un matraz aforado. Esta solución se almacenó en refrigeración a 4 °C en oscuridad hasta su utilización. De la solución madre se obtuvieron las concentraciones a utilizar, las cuales fueron de 100, 200, 300 y 400 mg kg⁻¹ de alimento, respectivamente, siguiendo el método de evaporación de alcohol propuesto por Guerrero (1975). Dado que la solución madre tiene una concentración de 1,000 mg por L⁻¹ de la hormona y considerando que es una mezcla homogénea, se tomaron 100, 200, 300 y 400 ml de la solución, respectivamente. Para agregar la concentración de hormona a un kilogramo de alimento comercial al 53 % de proteína (harina, Purina Agribrands®) (Figura 3 del Apéndice), se le agregó suficiente alcohol etílico al 95 % para obtener un

volumen final de 500 ml. Este volumen es el recomendado para hormonar un kilogramo de alimento. El alcohol funcionó como vehículo para adicionar la concentración deseada en un kilogramo de alimento.

La incorporación de las diferentes concentraciones de hormona al alimento comercial se realizó utilizando un atomizador de plástico con capacidad de 500 ml. Para ello, el alimento se distribuyó en una capa delgada sobre un plástico (Figura 4 del Apéndice) y la solución se dispersó sobre el alimento de afuera hacia dentro, cuidando de que el área de aspersión humedeciera de manera homogénea todo el alimento (Figura 5 del Apéndice). Para asegurar un mejor asperjado de la hormona en el alimento, éste se mezcló con la ayuda de una espátula de metal, y se repitió el proceso cuatro o cinco veces hasta que se terminó la solución (Figura 6 del Apéndice). Posteriormente, se dejó secar el alimento a temperatura ambiente durante período de cuatro horas. El alimento control de 0 mg kg^{-1} de EE_2 tuvo el mismo proceso de elaboración. El alimento control y el hormonado, previamente seco, se colocaron en recipientes de plástico y se almacenaron en un ambiente fresco a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 7 del Apéndice).

5.4.3. Producción de alevines en condiciones experimentales. Los alevines recién eclosionados y sexualmente indiferenciados fueron colectados a los 15 días después de formar los grupos de reproducción. Para recolectarlos se bajó el nivel de agua de los estanques por medio de sifoneo sacando aproximadamente el 90 % del volumen total.

Los alevines colectados fueron mezclados y transportados a un sistema de circulación cerrada, formado por 15 acuarios de acrílico con capacidad de 85 litros a una densidad inicial de 1 alevín L⁻¹. No se aplicó ningún tratamiento profiláctico a los alevines durante su paso del tanque al acuario. El agua en el sistema cerrado se pasó través de un filtro mecánico, biofiltro conteniendo solamente biobolas de plástico y una lámpara de luz ultravioleta. El fotoperíodo manejado fue de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado (100, 200, 300 y 400 mg kg⁻¹ y el grupo control).

Durante los primeros 20 días, los alevines se alimentaron con los tratamientos hormonales indicados al 20 % de su peso corporal, cada hora durante 12 horas. El flujo de aire dentro de los acuarios se cerró a los 15 minutos antes de alimentar a los alevines para facilitar el consumo de alimento. Una vez finalizado el tratamiento se proporcionó una dieta comercial al 50 % de proteína (migaja, Purina Agribands[®]) por 30 días.

Para las biometrías, se recolectó al azar una muestra de aproximadamente el 25 % del total de alevines por acuario. Durante el período de alevín las biometrías se realizaron cada 10 días. En cada medición se obtuvo el peso húmedo promedio con una balanza digital con capacidad de 2,000 g ± 0.01 y la longitud total utilizando un software digital (ImageJ[®]).

5.4.4. Crecimiento de juveniles en estanques de ferrocemento. Después de 30 días en los acuarios, todos los prejuveniles de cada uno de los tratamientos fueron contados para calcular la supervivencia y se realizó la biometría final. Los prejuveniles sobrevivientes de cada uno de los tratamientos se colocaron en cinco estanques de ferrocemento para su crecimiento. Los estanques contaron con agua conteniendo microalgas y los peces fueron cultivados hasta su madurez sexual (aproximadamente cuatro meses). Durante este tiempo se alimentaron con alimento comercial al 44 % de proteína (pellets, Purina Agribrands®) por un periodo de dos meses, seguido de alimento al 40 % y 35 % por un mes más y finalmente al 25 % de proteína por otro mes en la etapa de engorda hasta finalizar el experimento.

Para llevar a cabo las biometrías se colectó una muestra al azar de aproximadamente 60 peces por estanque. Las biometrías se realizaron cada 21 días. Se registró el peso húmedo de cada pez mediante el uso de una balanza digital y para la longitud total se usó un software digital (ImageJ®).

5.4.5. Análisis de proporción de sexos. La evaluación de la proporción de sexos se realizó por medio del examen externo de la papila genital, usando azul de metileno al 1 % para ayudar a la observación de las estructuras gonadales. Adicionalmente, 60 peces por sexo fueron pesados (g), medidos (cm) y sexados de nuevo extrayendo las gónadas. Las gónadas extraídas fueron pesadas utilizando una balanza digital para determinar el índice gonadosomático. Las gónadas se clasificaron en ovarios y testículos

5.4.6. Análisis del índice gonadosomático. El índice gonadosomático se calculó mediante la fórmula siguiente (Sturm, 1978): $IGS = [\text{peso de la gónada (g)} / \text{peso del pez (g)}] \times 100$.

6. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron por medio del programa estadístico statistica versión 7.0. Las diferencias en la longitud total (cm) y peso húmedo (g) entre tratamientos se analizaron por medio de un análisis de varianza de una vía. Los porcentajes de supervivencia obtenidos se transformaron por medio de la función arcoseno y se analizaron a través de un análisis de varianza de una vía. La proporción de hembras que se obtuvo en cada tratamiento hormonal se contrastó contra la proporción esperada para hembras atípicas de 3:1 (machos-hembras) utilizando una prueba de ji-cuadrada a un intervalo de confianza de 99 % ($P < 0.001$). Las diferencias en el índice gonadosomático entre tratamientos fueron transformadas por medio de la función arcoseno y las cuales se analizaron mediante un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis.

7. RESULTADOS

7.1. Crecimiento durante el periodo alevín

El incremento de peso húmedo registró diferencias significativas solamente en la segunda y tercer biometría ($P < 0.05$). En la segunda biometría el grupo alimentado con la concentración 100 mg kg^{-1} registró el peso más elevado (0.093 g), seguido de la concentración de 400 mg kg^{-1} (0.082 g), mientras que en la tercera biometría el grupo alimentado con la concentración de 400 mg kg^{-1} arrojó los valores significativamente más altos (0.64 g) al compararlo con los observados del grupo control y el resto de los grupos alimentados con EE_2 (Figura 1).

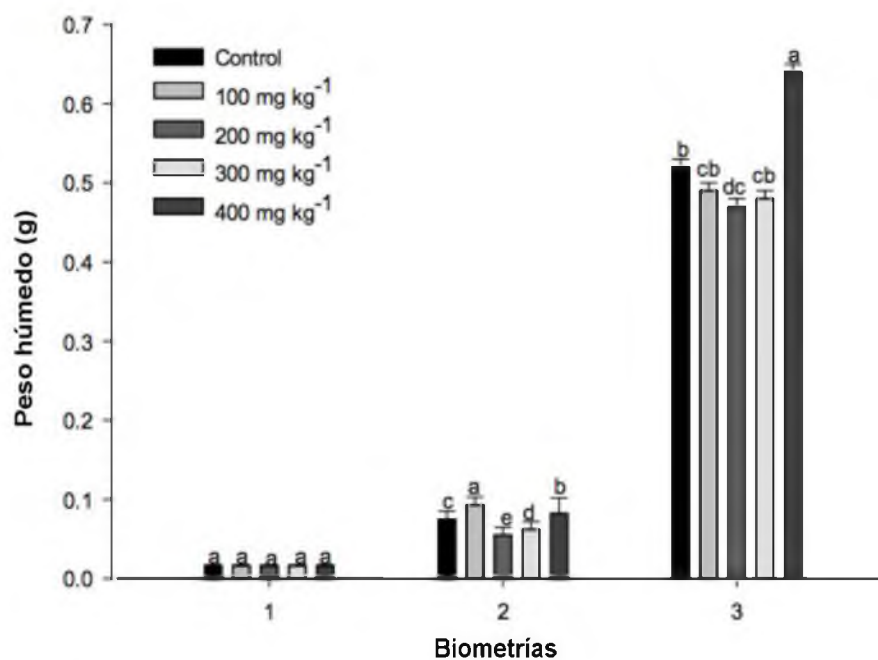


Figura 1. Peso húmedo de alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con 17α -etinilestradiol, a diferentes concentraciones durante 20 días en un sistema estático. La presencia de superíndices con diferente letra arriba de cada columna indica diferencias significativas entre los tratamientos en cada biometría ($P < 0.05$).

El incremento en la longitud total, al igual que el peso húmedo, arrojó diferencias significativas ($P<0.05$) en la segunda y tercer biometría, con el grupo alimentado con la concentración de 400 mg kg^{-1} registrando, en ambos casos, los valores más altos (1.27, 2.34 cm, respectivamente), seguido del grupo control y finalmente los grupos alimentados con las concentraciones de 100, 200 y 300 mg kg^{-1} de EE_2 (Figura 2).

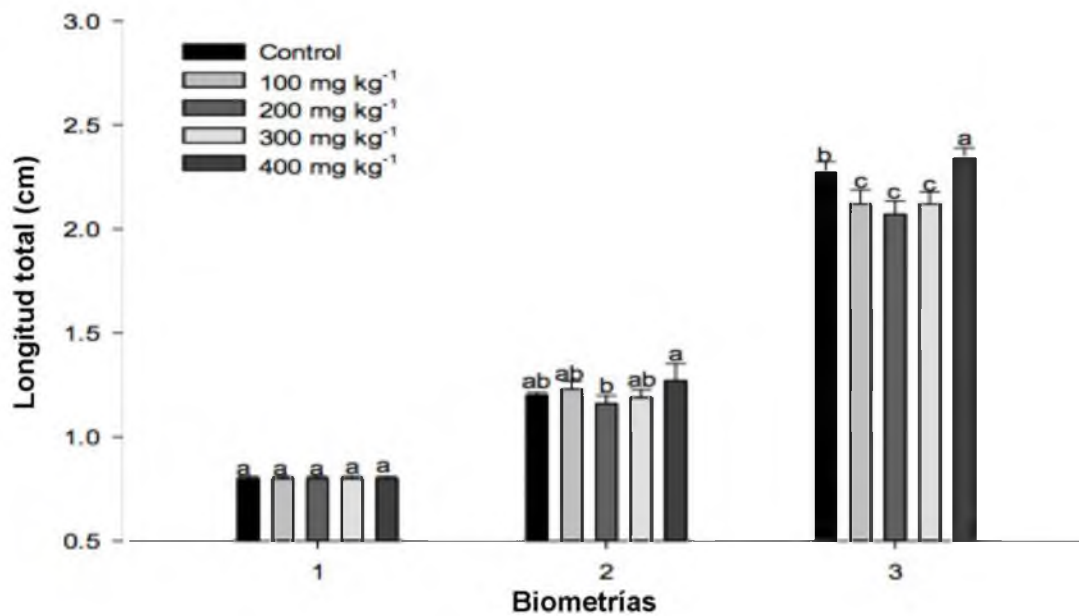


Figura 2. Longitud total de alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados con 17α -etinilestradiol, a diferentes concentraciones, durante 20 días en un sistema estático. La presencia de superíndices con diferente letra arriba de cada columna indica diferencias significativas entre los tratamientos en cada biometría ($P<0.05$).

7.2. Crecimiento durante el periodo juvenil y de engorda

El incremento de peso húmedo registró diferencias significativas a partir de la segunda biometría ($P<0.05$), con el grupo control mostrando los valores significativamente más altos (13.31 g), seguido del grupo alimentado con la concentración de 100 mg kg⁻¹ (11.82 g). Sin embargo, en la última biometría, no se observaron diferencias significativas entre el grupo control y las concentraciones de 100, 200 o 300 mg kg⁻¹. El grupo alimentado con la concentración de 400 mg kg⁻¹ registró el valor más bajo de peso húmedo (78.02 g), en comparación con el grupo control (82.85 g) y los grupos alimentados con 100, 200 y 300 mg kg⁻¹ (89.1 g, 82.96 g, 80.66 g, respectivamente) (Figura 3).

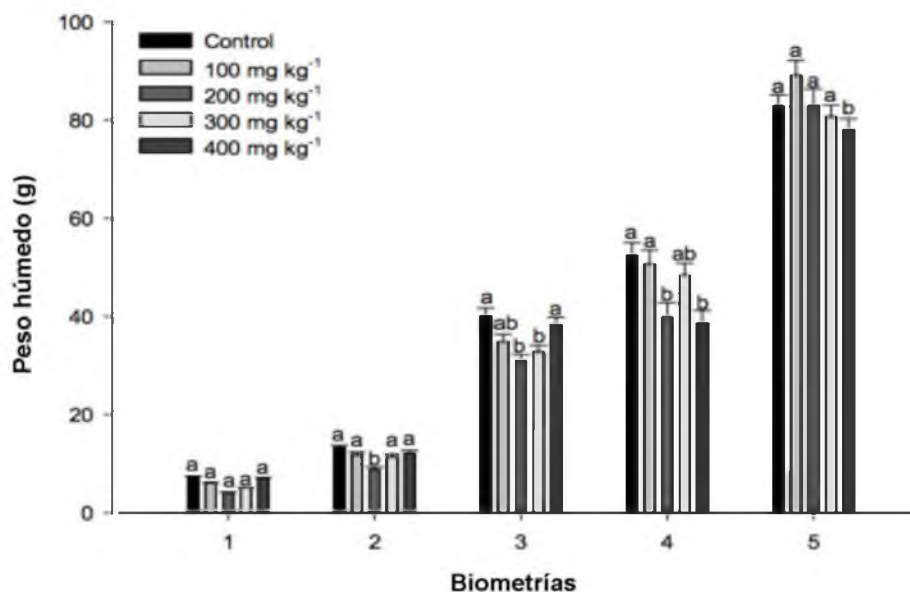


Figura 3. Peso húmedo durante el periodo juvenil y engorda de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas con 17 α -etinilestradiol, a diferentes concentraciones durante 20 días en un sistema estático. La presencia de superíndices con diferente letra arriba de cada columna indica diferencias significativas entre los tratamientos en cada biometría ($P<0.05$).

El incremento en la longitud total durante este periodo, presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) en todas las biometrías realizadas. El grupo control arrojó los valores más elevados en las primeras dos biometrías con 7.43 cm y 13.31 cm, respectivamente, en comparación con los grupos alimentados con 17α -etinilestradiol, sin embargo, en la biometría tres y cuatro no se registraron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos alimentados con las concentraciones de 100, 300 y 400 mg kg⁻¹. En ambas biometrías el valor de longitud total significativamente más corto se observó en el grupo alimentado con la concentración de 200 mg kg⁻¹. En la última biometría, no se observaron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos alimentados con las concentraciones de 100, 200 y 300 mg kg⁻¹. En este caso, el valor significativamente más corto de longitud total fue de 15.21 cm y fue observado en el grupo alimentado con la concentración de 400 mg kg⁻¹ (Figura 4).

7.3. Proporción de sexos e índice gonadosomático

Los resultados obtenidos para supervivencia final, proporción de sexos e índice gonadosomático se presentan en el Cuadro 1. Durante la evaluación, la tilapia del Nilo alcanzó la madurez sexual, lo cual permitió un rápido sexado manual. La supervivencia más alta (99.19 %) se observó en el grupo control, mientras que entre los grupos alimentados con 17α -etinilestradiol, la concentración de 400 mg kg⁻¹ presentó el valor más alto (88.36 %). La proporción de hembras observada en los grupos alimentados con 17α -etinilestradiol se desvió significativamente de la proporción 3:1 esperada para hembras atípicas en todas las concentraciones evaluadas. La mayor proporción de hembras (90 %)

se observó en el grupo alimentado con la concentración de 400 mg kg⁻¹ de 17α-etinilestradiol. No se registraron diferencias significativas ($P<0.05$) en el índice gonadosomático entre los grupos alimentados con EE₂. Sin embargo el grupo alimentado con la concentración de 200 mg kg⁻¹ arrojó un valor de índice gonadosomático más elevado en comparación con el grupo control (1.89 ± 0.27 vs 0.94 ± 0.23).

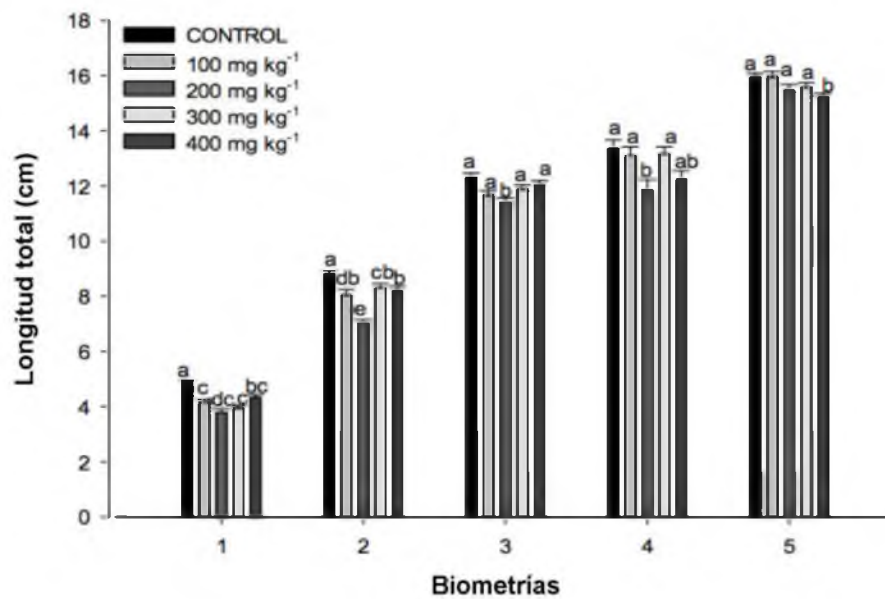


Figura 4. Longitud total durante el periodo juvenil y de engorda de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada con 17α-etinilestradiol, a diferentes concentraciones durante 20 días en un sistema estático. La presencia de superíndices con diferente letra arriba de cada columna indica diferencias significativas entre los tratamientos en cada biometría ($P<0.05$).

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

Dosis Hormonal mg kg ⁻¹	NPA*	S (%)	Proporción de sexos (%)		IGS
			M	H	
Control	60	99.19	81	19	0.94 \pm 0.23 ^b
100	60	87.17	21	79**	1.41 \pm 0.28 ^{ab}
200	60	72.58	11	89**	1.89 \pm 0.27 ^a
300	60	82.58	16	84**	1.39 \pm 0.21 ^{ab}
400	60	88.36	10	90**	1.11 \pm 0.21 ^{ab}

NPA=número de peces analizados; S= porcentaje de supervivencia; M= machos;
H= hembras; IGS=índice gonadosomático.

**Se desvía significativamente de la proporción 3:1 esperada para hembras atípicas ($P<0.001$).

8. DISCUSIÓN

Hasta el día de hoy el sector acuícola ha implementado diversas actividades para poder incrementar y fortalecer la producción, todo esto para reducir el impacto ambiental, con la ayuda del sector productivo en los trabajos de investigación y desarrollo tecnológico sobre aspectos como sanidad, nutrición, genética y manejo ambiental (FAO, 2012).

Las tendencias actuales, tanto en el mercado como en la investigación realizada, apuestan por una disminución en el uso de hormonas en el cultivo comercial de tilapia para obtener poblaciones monosexuales. Debido a lo anterior, se plantea apoyar la implementación de nuevas tecnologías e infraestructuras eficaces que permitan generar poblaciones monosexuales sin el uso de hormonas y sin causar daño al ambiente. Una de estas nuevas tecnologías es la producción de machos YY o supermachos (Mair *et al.*, 1997).

Sin embargo, la primera parte de la técnica requiere de hormonas exógenas para feminizar alevines, con el propósito de obtener hembras XY. Estas hembras son utilizadas para generar machos YY, los cuales a su vez permiten producir poblaciones monosexuales sin el uso de hormonas, lo cual reduce drásticamente la cantidad de hormonas que fluyen en los flujos de las granjas (Mair *et al.*, 1997). Todo esto ayuda a mejorar la producción y rentabilidad de la granja, reduciendo los costos de producción al utilizar hormonas. Asimismo, se protege y conservan los cuerpos de agua cercanos a la granja.

La feminización de alevines es una de las etapas críticas a la hora de producir machos YY. Se ha indicado que asegurar una buena generación e identificación de hembras con genotipo XY (hembras revertidas) permitirá obtener un número adecuado de machos YY. Por tanto, la feminización de la progenie de hembras con genotipo XY o hembras atípicas nos permite alcanzar dos objetivos al mismo tiempo; obtener hembras XY (al feminizar machos normales) y hembras YY (al feminizar machos YY) (Alcántar-Vázquez *et al.*, 2014). Las hembras YY, a veces llamadas neo-hembras nos permitirán, al cruzarlas con machos YY, obtener una gran cantidad de machos YY. Este paso es el último en la tecnología de producción de machos YY, ya que nos permite obtener una gran cantidad de machos YY en un solo paso y así formar un grupo grande de reproductores.

8.1. Feminización

En el presente trabajo se observó un incremento en la proporción de hembras al incrementar la concentración de 17α -etinilestradiol. A este respecto, Hopkins *et al.* (1979) reportaron un incremento en la proporción de hembras en la tilapia azul (*O. aurea*) conforme se incrementó la concentración de 17α -etinilestradiol. Asimismo, Melard (1995) obtuvo un 100 % de hembras en la tilapia azul al utilizar una dieta con 200 mg kg^{-1} de 17α -etinilestradiol. En este experimento no se alcanzó un 100 % de feminización, probablemente causado por la utilización de hembras atípicas, las cuales muestran un porcentaje de machos del 75 % en comparación con el 50 % de machos observados en hembras normales, Se ha reportado que la feminización de machos YY, presentes en la progenie de hembras atípicas en un 25 % puede ser más complicada que la feminización de

machos normales. Esta situación pudo haber contribuido a que los porcentajes de feminización, aunque elevados, no alcanzaran el 100 %, a pesar de utilizar dosis elevadas de 17 α -etinilestradiol.

8.2. Crecimiento

Algunas hormonas esteroides sintéticas han mostrado ser agentes promotores del crecimiento cuando se administran en bajas concentraciones. Sin embargo, un descenso del crecimiento, inducido por una exposición a esteroides sintéticos, ha sido reportado en varias especies de peces, especialmente cuando se incrementa la dosis de estrógenos utilizada (Piferrer, 2001). Se ha reportado que los estrógenos, naturales o sintéticos, no presentan un efecto positivo en el crecimiento de los teleosteos, a diferencia de los andrógenos, las cuales son hormonas masculinizantes (Johnstone *et al.*, 1979).

Hamdoon *et al.* (2013) reportaron una reducción del crecimiento utilizando estrógenos sintéticos después de alimentar alevines de la tilapia del Nilo con diferentes concentraciones de dietilestilbestrol por 40 días. Asimismo, Król *et al.* (2014) reportan un descenso en el crecimiento al utilizar el mismo estrógeno, mientras que con el estrógeno natural estradiol-17 β no se observó dicho descenso. Por otro lado, Varadaraj (1989) en la tilapia azul (*O. aureus*) y Chiba *et al.* (1993) en la anguila japonesa (*Anguilla japonica*) reportaron un mayor crecimiento en grupos alimentados con los estrógenos dietilestilbestrol y estradiol-17 β , respectivamente. En el presente estudio no se encontraron diferencias en el crecimiento entre el grupo control y los grupos alimentados con 17 α -etinilestradiol, a excepción de la concentración más alta (400 mg kg⁻¹), la

cual registró el menor crecimiento. A pesar de no encontrar diferencias significativas, se observó que el grupo alimentado con la concentración de 100 mg kg⁻¹ registró un mayor peso húmedo en comparación con el grupo control.

Estos resultados probablemente indican que en la tilapia del Nilo el 17 α -etinilestradiol presenta un efecto anabólico a nivel fisiológico, el cual permitió alcanzar un crecimiento mayor en lugar de reducirlo como normalmente se observa en otras especies de peces (Piferrer, 2001). Este efecto anabólico se ha reportado en otras especies del género *Oreochromis* utilizando otro estrógeno sintético, el dietilestilbestrol (Varadaraj, 1989). Herman y Kincaid (1988) indicaron que diferentes rutas metabólicas pueden estar involucradas en ambos casos.

El crecimiento obtenido en el presente trabajo cobra importancia si se toma en cuenta que en el grupo control la proporción de machos, los cuales se caracterizan en la tilapia del Nilo por presentar una mayor tasa de crecimiento, era superior al 80 %, mientras que en los grupos alimentados con 17 α -etinilestradiol la proporción de machos solo alcanzó un máximo del 21 %. Lo anterior indica que las hembras revertidas no muestran una reducción en la tasa de crecimiento, lo cual es normal en hembras XY (machos revertidos a hembras). Lo anterior probablemente fue causado, como se comentó previamente, por un efecto anabólico por parte del 17 α -etinilestradiol.

8.3. Supervivencia

Piferrer (2001) menciona que la aplicación de estrógenos, naturales o sintéticos, puede afectar negativamente la supervivencia en la gran mayoría de especies de teleósteos, en especial si es sobrepasado cierto límite, que depende de cada especie. Lo anterior está relacionado con un número de factores, entre los que destacan: la especie, concentración hormonal y duración del tratamiento. Lo anterior coincide con lo reportado para la tilapia del Nilo por Hamdoon *et al.*, (2013) quienes reportan un descenso en la supervivencia de grupos alimentados con la hormona sintética dietilestilbestrol durante 40 días en las concentraciones 50 y 100 mg kg⁻¹. Resultados similares han sido observados para esta especie por Marín-Ramírez (2014). Sin embargo, Varadaraj (1989) en la tilapia mossambica (*O. mossambicus*) no reporta una mortalidad significativa utilizando concentraciones elevadas de dietilestilbestrol (de 100 µg g⁻¹ a 1000 µg g⁻¹). Estos resultados son similares a lo observado en el presente trabajo, donde la mortalidad en los grupos alimentados no descendió significativamente, excepto en el grupo alimentado con la concentración de 200 mg kg⁻¹. En el presente estudio, al incrementar la concentración no se observó un descenso de la supervivencia, como el observado para esta misma especie por Marín-Ramírez (2014) al aplicar la hormona sintética dietilestilbestrol. En otras especies de peces de agua dulce, tal es el caso del pez zebra (*Danio rerio*), Andersen *et al.* (2003) no observó un efecto negativo en la supervivencia al utilizar diferentes dosis de 17α-etinilestradiol. Asimismo, Van Aerle *et al.* (2002) durante la feminización del minnow chino (*Pimephales promelas*) no encontró

un descenso significativo, ni la aparición de malformaciones, al utilizar diferentes dosis de 17 α -etinilestradiol. La supervivencia obtenida en los grupos alimentados con 17 α -etinilestradiol indica que a nivel fisiológico el efecto de esta hormona no es negativo como se observó con la hormona sintética dietilestilbestrol. Lo anterior se asevera por el hecho de que al incrementarse la concentración de la hormona no se observó un incremento de la mortalidad en los grupos tratados.

8.4. Índice gonadosomático

Índice gonadosomático indica la madurez sexual de los peces, el cual es un indicador del estado de salud y nutrición de la especie. Varios estudios han mostrado que una exposición continua de los peces a compuestos sintéticos les causa un deterioro en el desarrollo gonadal, con base en la reducción observada en el índice gonadosomático, los cambios morfológicos e histológicos que sufren las gónadas (Linderoth *et al.*, 2006; Marchand *et al.*, 2008; Louiz *et al.*, 2009).

En el presente estudio, el examen gonadal de los peces del grupo control y aquellos expuestos a diferentes concentraciones de 17 α -etinilestradiol presentaron diferencias significativas, en comparación con el grupo alimentado con la concentración de 200 mg kg⁻¹, el cual mostró los valores más altos de índice gonadosomático. Sin embargo, se observó que todos los grupos alimentados con 17 α -etinilestradiol mostraron un índice gonadosomático mayor que el grupo control, lo cual indica que el 17 α -etinilestradiol no

tuvo efectos negativos a nivel fisiológico sobre el desarrollo de la tilapia del Nilo. Estos resultados también muestran el cambio de machos a hembras en los grupos tratados hormonalmente. Se encontró que en el grupo control, la proporción de hembras fue menor al 20 %, mientras que en los grupos alimentados con 17α -etinilestradiol fue cercana o mayor al 80 %. En general, las hembras de tilapia del Nilo, muestran un mayor desarrollo gonadal en comparación con los machos. Lo anterior pudo ser resultado del gran tamaño que presentan sus oocitos (huevos) en comparación con los de otros peces teleósteos. La producción de oocitos se traduce en un mayor índice gonadosomático en comparación con la producción de espermatozoides en los machos.

En el presente estudio, aunque no se alcanzó un 100 % de feminización al utilizar 17α -etinilestradiol en concentraciones elevadas, los porcentajes obtenidos, en adición al excelente crecimiento, índice gonadosomático y supervivencia observados en los grupos de peces alimentados con 17α -etinilestradiol, nos garantiza una adecuada producción de machos XY y hembras YY, los cuales podrán ser utilizados como reproductores dentro del paquete tecnológico de producción de machos YY de la tilapia del Nilo desarrollado al interior de la Universidad del Papaloapan.

9. CONCLUSIONES

Al incrementar la concentración de 17α -etinilestradiol en el alimento es posible incrementar la proporción de hembras obtenidas en la progenie de hembras atípicas de tilapia del Nilo. Sin embargo, la administración de concentraciones altas de 17α -etinilestradiol no garantiza una feminización del 100 % de la progenie de hembras atípicas.

La aplicación de 300 mg kg^{-1} de la hormona 17α -etinilestradiol no disminuye la tasa de crecimiento de la progenie de hembras atípicas en la tilapia del Nilo.

La supervivencia de la progenie de hembras atípicas no se ve afectada por la aplicación de altas concentraciones de la hormona 17α -etinilestradiol.

La aplicación de la hormona 17α -etinilestradiol a concentraciones elevadas no disminuye el índice gonadosomático de la progenie de hembras atípicas causado por una inhibición del desarrollo gonadal.

10. RECOMENDACIONES

Los resultados de supervivencia y crecimiento obtenidos en el presente estudio permiten combinar la aplicación de la hormona 17 α -etinilestradiol con temperaturas frías de cultivo (21 °C) para lograr un 100 % de feminización de la progenie de hembras atípicas.

De acuerdo a los resultados obtenidos se recomienda utilizar concentraciones mayores a 400 mg kg⁻¹ de la hormona 17 α -etinilestradiol con la intención de maximizar los porcentajes de feminización.

Continuar el estudio de la aplicación de la hormona 17 α -etinilestradiol en el cultivo de los peces con el objetivo de determinar en la dosis óptima para la obtención hembras YY.

11. LITERATURA CITADA

- Alcántar-Vázquez, J.P., Santos-Santos, C., Moreno-de la Torre, R. y C. Antonio-Estrada. 2014. Manual para la Producción de supermachos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). UNPA-SUNEO, Oaxaca. México. 81 pp.
- Andersen, L., Holbech, H., Gessbo, A., Norrgren, L. y Petersen, G. I. 2003. Effects of exposure to 17alpha-ethinylestradiol during early development on sexual differentiation and induction of vitellogenin in zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 134(3): 365-374.
- Arboleda-Obregón, D. A. 2005. Reversión sexual de las tilapias rojas (*Oreochromis* sp), una guía básica para el acuicultor. *Revista Electrónica de Veterinaria, REDVET*. 6(12):1-5.
- Arias-Rodríguez, L. y Parámo-Delgadillo, S. 2001. Biotecnología cromosómica en peces. Producción de peces triploides. *kuxulkab' Revista de divulgación*. 5(11):8-12.
- Arredondo, F. J. L. y Lozano, G. S. 1996. Cultivo de tilapia en México. En: *Memorias del primer curso Internacional de producción de Tilapia*. División de Educación Continua, UNAM. pp. 7-68.
- Baroiller, J. F., D`cotta, H., Bezault, E., Wessels, S. y Hoerstegen-schawark, G. 2009. Tilapia sex determination: where temperature and genetics meet. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 153(1):30-38.

- Chiba, H., Iwatsuk, K., Hayami, K. y Yamauchi, K. 1993. Effect of dietary estradiol-17 β on feminization, growth and body composition in the Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 106(A):367-372.
- 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_anuario_estadistico_de_pesca. Consultado: 19 de Noviembre de 2014.
- Contreras-Sánchez, W. M., Marque-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 inversion techniques. En: Harris, I., Couter, N. y Eгна, H. (eds) Twenty-first annual technical reports. *Aquaculture CRSP*. 31:189-195.
- Daza, V. P., Parra, L. y Ochoa, S. 2005. Reproducción de los peces en el 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 α -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.

- FAM. 2014. Fuerza Aérea Mexicana. Estadística Meteorológica Mensual. Dirección de servicio meteorológico. Estación Loma Bonita, Oaxaca, México.
- FAO. 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Tomado de fisheries global information system (FIGIS). Disponible en: http://www.fao.org/fishery/countrysect/or/naso_mexico/es. Consultado: 19 de Noviembre de 2014.
- Guerrero, R. 1975. Use of androgens for the production of all-male tilapia aurea (Steindachner). Transactions of the American Fisheries Society. 2:324-348.
- 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.
- Herman, R. L. y Kincaid, H. L. 1988. Pathological effects of orally administered estradiol to rainbow trout. Aquaculture. 72:165-172.
- Hopkins, K. D. Shelton, W. L. y Engle, C. R. 1979. Estrogen sex-reversal of *Tilapia aurea*. Aquaculture. 18: 263-268.
- Hurtado, T. N. 2005. Inversión sexual en tilapias. Revisión bibliográfica. INH. Ingenieros Consultores. Lima, Perú. 43 p.
- Jiménez, M. L. y B. Arredondo, J. L. F. 2000. Manual técnico para la reversión sexual de tilapia. Acuicultura, Iztapalapa, D.F, 37 p.

- Johnstone, R., T. H. Simpson y Walker A. F. 1979. Sex reversal in salmonid culture. Part III. The production and performance of all female populations of brook trout. *Aquaculture*. 16:241-252.
- Król, J., Poblocki, W., Bockenheimer, T. y Hliwa, P. 2014. effect of diethylstilbestrol (DES) and 17 β -estradiol (E2) on growth, survival and histological structure of the internal organs in juvenile European catfish *silurus glanis* (l.). *Aquaculture International*. 22:53-62.
- 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.
- Mair, G. C., Abucay, J. S., Skibinski, D. F. y Beardmore, J. A. 1997. Genetic manipulation of sex ratio for the large scale production of all-male tilapia,

- Oreochromis niloticus*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 54: 396-404.
- Marchand, M. J., Pieterse, G. M. y Barnhoorn, I. J. 2008. Preliminary results on sperm motility and testicular histology of two feral fish species, *Oreochromis mossambicus* and *Clarias gariepinus*, from a currently DDT sprayed 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 del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Tesis de Licenciatura. Universidad del Papaloapan, Loma Bonita, Oaxaca. 44 p.
- 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. Deutscher Tropentag. 5-7 p.
- Piferrer, F. 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture. 197:229-281.
- SAGARPA. 2011. Anuario Estadístico de Pesca 2011. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Sturm, G. M. de L. 1978. Aspects of the biology of *Scomberomorus maculatus* (Mitchill) in Trinidad. Journal of Fish Biology. 13(2):155-172.
- Van Aerle, R., Pounds, N., Hutchinson, T. H., Maddix, S. y Tyler, C. R. 2002. Window of sensitivity for the estrogenic effects of ethynylestradiol in early

- life-stages of fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Ecotoxicology*. 11(6): 423-434.
- Varadaraj, K. 1989. Feminization of *Oreochromis mossambicus* by administration of diethylstilbestrol. *Aquaculture*, 80:337-341.
- Varadaraj, K., Sindihu, K. S. y Pandian, T. J. 1994. Comparison of conditions for hormonal sex reversal of mozambique tilapias. *The progressive Fish-culturist*. 56: 81-90.
- Vera, C. E. M., Mair, G. C. y Marino, R. P. 1996. Feminization of genotypically YY Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Asian Fisheries Society*, 9: 161-167.
- Vidal, L. J., Contreras, S.W., Álvarez, G. A. Hernández, F. A. y Hernández, V. U. 2008. Técnicas de reversión sexual aplicadas en acuicultura. *Kukulkab´*. 15(27):49-54.
- Wang, H. L. y Tsai, L. C. 2000. Effects of temperature on the deformity and sex differentiation of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Experimental Zoology*. 286:534-537.

12. APÉNDICE



Figura 1: Hormona utilizada



Figura 2. Alimento comercial al 53 % de proteína (harina, Purina Agribrands).



Figura 3. Distribución del alimento para la aplicación de la hormona 17α -etinilestradiol.



Figura 4. Aplicación de la hormona de afuera hacia adentro.



Figura 5. Homogenización del alimento junto con la hormona aplicada.



Figura 6. Envasado y etiquetado del alimento seco para colocarlo en refrigeración a 4 °C.



Figura 7. Sistema de recirculación cerrada compuesto por 15 acuarios con capacidad de 85 L de agua.



Figura 8: Estanques de ferrocemento de la unidad Acuícola de la Universidad del Papaloapan.