

Masculinización de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) por inmersión en Fluoximesterona y Testostesterona enantato

Pablo Torres-Hernández^{1*}, Graciela Beatriz Nucamendi-Rodríguez², Pablo Pintos-Terán¹
y José Alberto Montoya-Márquez³.

¹Universidad del Mar (UMAR). Instituto de Industrias. Laboratorio de Acuicultura. Ciudad Universitaria Puerto Ángel. México. *Correo electrónico: torresp@angel.umar.mx.

²UMAR. Programa de Ingeniería en Acuicultura. México.

³UMAR. Instituto de Recursos. México.

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la fluoximesterona (F) y testosterona enantato (T) en el crecimiento, supervivencia y proporción sexual de la progenie de *Oreochromis niloticus*. En estanques de 50 l se colocaron 38 larvas por unidad experimental. Los tratamientos por triplicado fueron F₄ 400 µg·l⁻¹; F₁₂ 1.200 µg·l⁻¹; F₂₀ 2.000 µg·l⁻¹; y T₄ 400 µg·l⁻¹; T₁₂ 1.200 µg·l⁻¹; T₂₀ 2.000 µg·l⁻¹; así como los controles agua (A) y agua más alcohol (AE). Se determinó la tasa específica de crecimiento en longitud total (TEC-L) y en peso húmedo (TEC-P), el experimento finalizó cuando los peces tenían una edad de 138 días después de la fecundación (DPF). La proporción sexual se evaluó mediante la observación directa de la gónada en un estereoscopio y microscopio compuesto. No se encontraron diferencias significativas en TEC-P, TEC-L y en la supervivencia entre los tratamientos. Sin embargo, en la proporción sexual se encontraron diferencias significativas, indicando que F₂₀ (93 %) valor superior a los controles A (58 %) y AE (62 %), y a los tratamientos F₁₂ (72 %), T₄ (69 %), T₂₀ (65 %) y semejante estadísticamente a F₄ (79 %), y T₁₂ (73 %). Los tratamientos F₄, F₁₂, T₄, T₁₂ y T₂₀, no presentaron diferencias significativas con respecto a los controles A y AE. La masculinización obtenida con el tratamiento por inmersión en F (2000 µg·l⁻¹) permite considerar este procedimiento como eficiente para la producción de progenie masculina de tilapia.

Palabras clave: inversión sexual, inmersión, esteroides, fluoximesterona y testosterona enantato.

Masculinization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) by immersion in fluoximesterone and testosterone enanthate

ABSTRACT

The effect of the hormone fluoximesterone (F) and testosterone enanthate (T) were evaluated in the growth, survival and the sex ratio of offspring of *Oreochromis niloticus*. In 50 liter tanks, 38 larvae were placed in each experimental unit. Treatments were triplicated: F₄ 400 µg·l⁻¹; F₁₂ 1.200 µg·l⁻¹; F₂₀ 2.000 µg·l⁻¹; and T₄ 400 µg·l⁻¹; T₁₂ 1.200 µg·l⁻¹; T₂₀ 2.000 µg·l⁻¹, as well as controls for water (A) and water plus alcohol (EA). The rate of growth was measured in length (TEC-L) and in weight (TEC-P). The experiment ended when the fish had reached an age of 138 days after fertilization (DPF). The sex ratio was determined by the direct observation of the gonad using a stereoscope and a compound microscope. After the experiment concluded, there were no significant differences in TEC-P, TEC-L, nor in survival in the treatments and controls. In the sex ratio, there were significant differences between treatments, indicating that F₂₀ (93%) was significantly higher than controls A (58%) and AE (62%) and

treatments F₁₂ (72%), T₄ (69%), T₂₀ (65%). F₂₀ was statistically similar to F₄ (79%) and T₁₂ (73%). Treatments F₄, F₁₂, T₄, T₁₂ and T₂₀ showed no significant differences compared to controls A and AE. The masculinization obtained with treatment by fluoxymesterone immersion (2000 mg · l⁻¹) allows us to consider this procedure as efficient for the production of male progeny of tilapia.

Keywords: sex reversal, immersion, steroids, fluoxymesterone testosterone enanthate.

INTRODUCCIÓN

La tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1757), es una de las especies con mayor potencial de cultivo por su rápido crecimiento; eficiente conversión alimenticia debido a su aceptación de alimentos naturales y dietas artificiales; tolerancia a una amplia gama de ambientes; resistencia al estrés y enfermedades; y a su habilidad para reproducirse en cautividad (El-Sayed, 2006), así como a su aceptación en mercados regionales e internacionales.

En el cultivo de la tilapia del Nilo, la madurez sexual precoz y su reproducción prolífica pueden ocasionar un crecimiento rápido de la población en los estanques, aumentando la competencia por el recurso alimenticio, disminuyendo las tasas de crecimiento e incrementando la mortalidad (Pillay, 1997), por lo que es conveniente inhibir la capacidad reproductiva de esta especie en cultivos extensivos.

En las hembras de tilapia, la madurez gonadal y el cuidado parental (incubación maternobucal), involucran un alto gasto energético, lo que implica una proporción menor de energía dirigida al crecimiento somático que el realizado en machos (Macintosh y Little, 1995; Gale *et al.*, 1999). Una mayor proporción de hembras en el cultivo semi-intensivo o intensivo, incrementa el factor de conversión alimenticio y ocasiona poblaciones con tallas heterogéneas en los estanques, por lo que es conveniente trabajar sólo con progenies masculinas.

La determinación sexual, es el resultado de la anfimixia que da lugar a la recombinación de los cromosomas sexuales de los progenitores. Durante la ontogenia del aparato reproductor se presenta un período indiferenciado en el cual el sexo está preestablecido, pero, no es evidente (Devlin y Nagahama, 2002). Esta etapa es definida como un período lábil de diferenciación sexual (Pandian y Sheela, 1995) y en la tilapia del Nilo se lleva a cabo entre los 10 y 26 días posteriores a la eclosión (Nakamura *et al.*, 1998).

Durante el mismo, la diferenciación sexual es sensible a factores externos o ambientales tales como la temperatura (Desprez y Mélard, 1998), pH, salinidad (Abucay *et al.*, 1999), fotoperíodo (Ridha y Cruz, 2000) y a hormonas exógenas (Yamamoto, 1969).

Durante el período lábil, se suministran hormonas sexuales, como andrógenos o estrógenos, para influir en la inversión sexual, que es el proceso en que la gónada indiferenciada es dirigida hacia un sexo en particular (Green *et al.*, 1997) y que erróneamente se le conoce como reversión sexual.

El procedimiento más empleado para inducir a la inversión sexual masculina en progenies de tilapia del Nilo, es el suministro del andrógeno 17 α -metilttestosterona en el alimento durante el período lábil de diferenciación sexual (Tayamen y Shelton, 1978; Nakamura e Iwahashi, 1982; Owusu-Frinpong y Nijhar, 1981; Vera Cruz y Mair, 1994; Carvalho y Foresti, 1996).

El suministro oral de andrógenos ha permitido producir poblaciones con proporción masculinas del 80 al 100 %, esta variación es probable que se deba a las diferentes cantidades de alimento hormonado que es consumido por los peces, proceso influido principalmente por el procedimiento de alimentación, la competencia por el alimento, la densidad y las características hidráulicas del tanque de cultivo.

Por su parte, Gale *et al.* (1999), sugieren que la técnica de inmersión permite una concentración de hormona homogénea en el cuerpo de agua, lo cual facilita que los peces tengan una dosificación hormonal similar. Además esta técnica permite un mínimo de tiempo de exposición y riesgo de manejo.

En la tilapia del Nilo se han ensayado por inmersión los esteroides: 17 α -metildihidrotestosterona (Fitzpatrick *et al.*, 1998; Gale *et al.*, 1999; Contreras-Sánchez, 2001; Wassermann y Afonso, 2003), 17 α -metilttestosterona (Fitzpatrick *et al.*, 1998; Gale *et al.*, 1999; Contreras-Sánchez, 2001; Wassermann

y Afonso, 2003; López *et al.*, 2007), trembolona acetato (T; Fitzpatrick *et al.*, 1998; Contreras-Sánchez, 2001), norgestrel (Contreras-Sánchez, 2001) y etiniltestosterona (Wassermann y Afonso, 2003). El suministro por inmersión en períodos cortos de tiempo de 17 α -metildihidrotestosterona, T y 17 α -metiltestosterona, han producido poblaciones con una proporción masculina cercana a 95 %, como se recomienda en el cultivo de esta especie (Mair y Little, 1991).

En el presente trabajo se realizaron los primeros bioensayos por inmersión utilizando dos esteroides androgénicos: fluoximesterona (F) y T con la finalidad de evaluar su eficiencia en la masculinización, crecimiento y supervivencia en alevines de la tilapia del Nilo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El bioensayo se realizó en el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad del Mar, *Campus* Puerto Ángel, de septiembre del 2004 a marzo del 2005.

Se obtuvieron de la cavidad bucal de una hembra proveniente del Centro Piscícola de Jalapa de Márquez, del estado de Oaxaca, larvas viteladas de *O. niloticus* con cinco días posteriores a la fecundación (DPF).

Las larvas fueron colocadas en un tanque cilindrocónico de 60 l, provisto con aireación continua para su aclimatación a las condiciones del sistema de cultivo. Se seleccionaron 912 larvas y fueron distribuidos al azar 38 organismos en 24 estanques de fibra de vidrio de 55 x 26 x 35 cm con volumen de trabajo de 40 l.

Una vez que las larvas absorbieron el saco vitelino, se alimentaron con api-tilapia 1 de alevinaje con 40 % de proteína de la marca comercial maltaCleyton. El alimento fue suministrado a una tasa inicial de 15 % del total de biomasa y fue ajustado de acuerdo a los incrementos de biomasa para concluir en 10 %.

Las hormonas empleadas fueron: comprimidos de 2,5 mg F, marca Stenox del Laboratorio Atlantis y T del Laboratorio Brovel en solución de 10 ml. Se empleó 25 ml de etanol al 96 % como vehículo solvente de los esteroides.

Se evaluó el efecto de la hormona F y T, en tratamientos por triplicado. Las dosificaciones ensayadas fueron: F₄ 400 $\mu\text{g l}^{-1}$; F₁₂: 1.200 $\mu\text{g l}^{-1}$;

F₂₀: 2.000 $\mu\text{g l}^{-1}$; y T₄: 400 $\mu\text{g l}^{-1}$; T₁₂: 1.200 $\mu\text{g l}^{-1}$; T₂₀: 2.000 $\mu\text{g l}^{-1}$, así como los controles agua (A) y agua más alcohol (AE).

El tratamiento hormonal consistió en 2 inmersiones en un volumen de 3 l, con las dosificaciones hormonales (F y T), durante 3 horas, y realizadas a los 10 DPF y 14 DPF, de acuerdo a lo propuesto por Wassermann y Afonso (2003).

La determinación del crecimiento en longitud total y peso húmedo de los peces, se estableció a través de las biometrías realizadas a diferentes edades, con el objetivo de ajustar la tasa de alimentación y evaluar el crecimiento durante todo el experimento. Las biometrías se aplicaron a los 9, 19, 39, 54 DPF; las mediciones se hicieron con una balanza analítica marca Ohaus con una precisión de 0,001g. La longitud total se midió con vernier digital Mitutoyo con un intervalo mínimo de 0,01 mm.

También, fue determinada la tasa específica de crecimiento (TEC) de acuerdo a Hopkins (1992), para la longitud total (TEC - L) y para el peso húmedo (TEC - P). Las tasas de crecimiento se calcularon para un período de 35 días, considerado entre las edades de 19 a 54 DPF.

La supervivencia se evaluó a 39 DPF. Se empleó el Coeficiente de supervivencia (SUP), el cual es un indicador de la resistencia al manejo y confinamiento de los organismos y se calculó de acuerdo a Weatherley y Gill (1987).

A la edad de 54 DPF, los peces se trasladaron a la parte externa del laboratorio y se distribuyeron en jaulas de plástico con dimensiones de 41 cm de diámetro x 24 cm de altura, sumergidas en 3 estanques de fibra de vidrio con un volumen de 3.000 l, y fueron sacrificados a la edad de 138 DPF para evaluar la proporción sexual de la progenie. La identificación del sexo se realizó empleando la técnica de Guerrero y Shelton (1974), que consiste en la extracción, montaje y tinción de la gónada con aceto carmín, para ser observada en un microscopio compuesto a 10 y 40 x. Se consideró hembra cuando se observó la presencia de oocitos, con los núcleos ligeramente teñidos y rodeados por el citoplasma más oscuro, además de una gónada más ancha y de color amarillento. Los machos se identificaron con base en la presencia del conducto espermático y los espermatozoides en

desarrollo; una gónada alargada con ondulaciones en los bordes y coloración blanquecina.

Para el análisis de la supervivencia y del porcentaje en sexo, se usó la transformación arcoseno y sobre las variables transformadas se hizo un ANOVA de una vía, al detectarse diferencias significativas se hizo la prueba de Tukey (Zar, 1996).

En cuanto, al análisis del crecimiento en longitud (total) y peso (húmedo) se usó el análisis de medias repetidas para evaluar el crecimiento a las edades (Zar, 1996). La TEC-L y la TEC-P se evaluaron a través de un ANOVA de una vía para cada variable. Por otra parte, para probar diferencias en el crecimiento (talla y peso) entre sexos por tratamiento, se usó un análisis múltiple de la varianza (MANOVA) de dos vías (tratamientos y sexos), al haber diferencias significativas se procedió al análisis posterior (ANOVA) sobre la(s) variable(s) significativa(s), de haber significancia en ésta, se usó la prueba de Tukey para determinar en qué tratamientos hubieron diferencias (Hair *et al.*, 1999).

Los supuestos de todos los análisis estadísticos fueron probados a través del análisis de los residuales (Mendenhall y Sincich, 1996). Todas las pruebas se realizaron a un nivel de significancia del 5 % (Zar, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cultivo experimental se realizó a una temperatura de $26,9 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,8$ (media \pm desviación estándar (D.E.)) con intervalos de $25,1$ a $29,2^{\circ}\text{C}$. La concentración media de oxígeno disuelto (media \pm D.E.) fue de $4,6 \pm 0,7 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ con intervalos de $3,4$ a $6,8 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$; y un pH promedio de $8,1 \pm 0,2$ (media \pm D.E.).

En la primera inmersión, los peces presentaron un peso de $0,012 \text{ g} \pm 0,001$ (media \pm Error Estándar (E.E.)) y una longitud total de $1,004 \text{ cm} \pm 0,029$ (media \pm E.E.). El agua tenía una temperatura de $27,3 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,8$ (media \pm D.E.), y una concentración de oxígeno disuelto de $4,9 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \pm 0,4$ (media \pm D. E.). En la segunda inmersión se registró una temperatura de $25,0 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1$ (media \pm D. E.) y una concentración de oxígeno disuelto de $6,0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \pm 0,5$ (media \pm D. E.).

Durante los dos procesos de inmersión, se obtuvo una supervivencia del 100 %, y 15 días después de haber aplicado la última inmersión se observó una pequeña disminución de la supervivencia en F_{20} y T_{20} , concluyendo en 99 y 98 %, respectivamente. La aplicación de la hormona por inmersión no produjo mortalidades significativas (ANOVA: $F_{7, 16} = 0,87$; $P = 0,553$). La talla promedio inicial a la edad de 9 DPF fue de $1,0 \text{ cm}$ y a los 54 DPF de $3,52$ a $3,74 \text{ cm}$ (Cuadro 1).

Cuadro 1. Longitud total promedio (cm \pm E.E.) de la tilapia del Nilo a las edades 9, 19, 39 y 54 DPF.

	Longitud total (cm) \pm E.E. a la edad			
	9 DPF	19 DPF	39 DPF	54 DPF
F_4	$1,00 \pm 0,0032$	$1,81 \pm 0,0149$	$2,50 \pm 0,0427$	$3,61 \pm 0,0557$
F_{12}	$1,00 \pm 0,0032$	$1,77 \pm 0,0149$	$2,57 \pm 0,0427$	$3,69 \pm 0,0557$
F_{20}	$1,01 \pm 0,0032$	$1,81 \pm 0,0149$	$2,48 \pm 0,0427$	$3,55 \pm 0,0557$
T_4	$1,00 \pm 0,0032$	$1,78 \pm 0,0149$	$2,46 \pm 0,0427$	$3,52 \pm 0,0557$
T_{12}	$1,00 \pm 0,0032$	$1,79 \pm 0,0149$	$2,58 \pm 0,0427$	$3,65 \pm 0,0557$
T_{20}	$1,00 \pm 0,0032$	$1,81 \pm 0,0149$	$2,48 \pm 0,0427$	$3,57 \pm 0,0557$
A	$1,00 \pm 0,0032$	$1,84 \pm 0,0149$	$2,67 \pm 0,0427$	$3,74 \pm 0,0557$
AE	$1,00 \pm 0,0039$	$1,78 \pm 0,0182$	$2,45 \pm 0,0522$	$3,50 \pm 0,0682$

E.E.: Error estándar; DPF: Días posteriores a la fecundación.

En cuanto al crecimiento en talla, el análisis de medidas repetidas no mostró diferencias significativas entre los tratamientos para cada una de las edades analizadas ($F_{21,48}=1,78$; $P=0,050$).

Para el período del 19 al 54 DPF, la TEC-L se encontró en el intervalo de 2,8 a 2,9 % $\cdot d^{-1}$ (Figura 1). El análisis de TEC-L no reportó diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA: $F_{7,16}=1,69$; $P=0,181$). La TEC-L para este período fue de 2,84 % $\cdot d^{-1} \pm 0,074$ (media \pm E. E.).

El crecimiento en peso húmedo para las edades de 9, 19, 39 y 54 DPF, se presenta en la Cuadro 2. El análisis de medidas repetidas del peso húmedo indicó que no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para cada una de las edades analizadas ($F_{21,48}=1,263$; $P=0,247$).

Para el período del 19 al 54 DPF, la TEC-P se encontró en el intervalo de 8,9 a 9,2 % $\cdot d^{-1}$ (Figura 2). El análisis no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA: $F_{7,16}=0,95$; $P=0,494$). La TEC-P promedio (\pm E. E.) para este período fue de 9,0 $\pm 0,2$ % $\cdot d^{-1}$.

A la edad de 138 DPF, se realizó la identificación del sexo y se analizó el crecimiento diferencial en talla y peso, entre machos y hembras por tratamiento (Figuras 3 y 4), el análisis mostró diferencias

significativas en ambas variables por sexos (MANOVA $\lambda_{2,718}=0,981$; $P=0,001$), y entre sexos por tratamiento (MANOVA $\lambda_{14,1436}=0,965$; $P=0,034$).

De manera general, los machos tuvieron tallas mayores que las hembras (ANOVA: $F_{1,719}=12,66$; $P<0,001$). El crecimiento diferencial representó una talla menor en un 21,8 % de las hembras con respecto a los machos. El análisis en peso tuvo un comportamiento similar al de la talla, en el cual se registró un crecimiento significativamente menor en hembras (ANOVA: $F_{1,719}=13,597$; $P<0,001$) de 23 % con respecto al peso promedio de los machos.

El sexo tuvo un efecto conjunto con los tratamientos (interacción significativa entre sexo y tratamiento) tanto en talla ($F_{7,719}=2,75$; $P=0,007$) como en peso ($F_{7,719}=2,561$; $P=0,013$). La talla promedio en los machos con inmersión en hormona fue de 8,5 cm y en los controles de 8,6 cm. En el caso de las hembras con inmersión, la talla promedio fue de 7,8 cm y 7,7 cm en los controles. El peso obtenido en los machos hormonados, fue de 11,3g y de 11,0g en los tratamientos control. En las hembras el peso fue de 8,7 g y de 7,4 g en los controles (Figuras 3 y 4).

La proporción de machos por tratamiento resultó significativo (ANOVA: $F_{7,15}=4,709$; $P=0,006$. Cuadro 3.

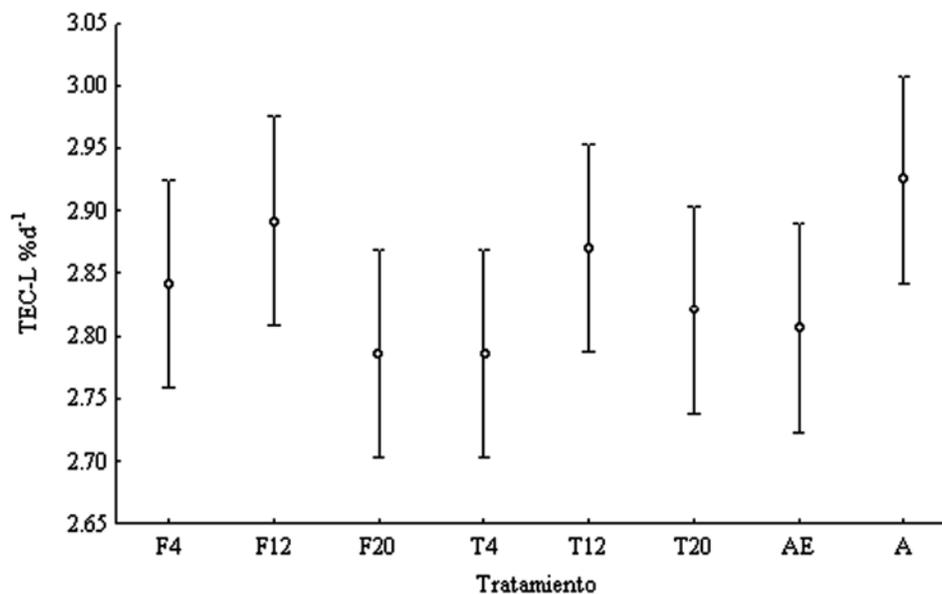


Figura 1. Tasa Específica de Crecimiento para la longitud total (TEC-L % $d^{-1} \pm$ E.E.) de la tilapia del Nilo para el período de 19 a 54 DPF.

Cuadro 2. Peso húmedo promedio (g \pm E.E.) de la tilapia del Nilo a las edades 9, 19, 39 y 54 DPF.

	Peso húmedo (g) \pm E.E. a la edad			
	9 DPF	19 DPF	39 DPF	54 DPF
F ₄	0,01 \pm 0,0003	0,07 \pm 0,0022	0,23 \pm 0,0115	0,69 \pm 0,0309
F ₁₂	0,01 \pm 0,0003	0,07 \pm 0,0022	0,24 \pm 0,0115	0,72 \pm 0,0309
F ₂₀	0,01 \pm 0,0003	0,07 \pm 0,0022	0,22 \pm 0,0115	0,65 \pm 0,0309
T ₄	0,01 \pm 0,0003	0,07 \pm 0,0022	0,22 \pm 0,0115	0,67 \pm 0,0309
T ₁₂	0,01 \pm 0,0003	0,07 \pm 0,0022	0,24 \pm 0,0115	0,70 \pm 0,0309
T ₂₀	0,01 \pm 0,0003	0,07 \pm 0,0022	0,22 \pm 0,0115	0,64 \pm 0,0309
A	0,01 \pm 0,0003	0,08 \pm 0,0022	0,27 \pm 0,0115	0,72 \pm 0,0309
AE	0,01 \pm 0,0003	0,07 \pm 0,0027	0,21 \pm 0,0140	0,62 \pm 0,0378

E.E.: Error estándar; DPF: Días posteriores a la fecundación.

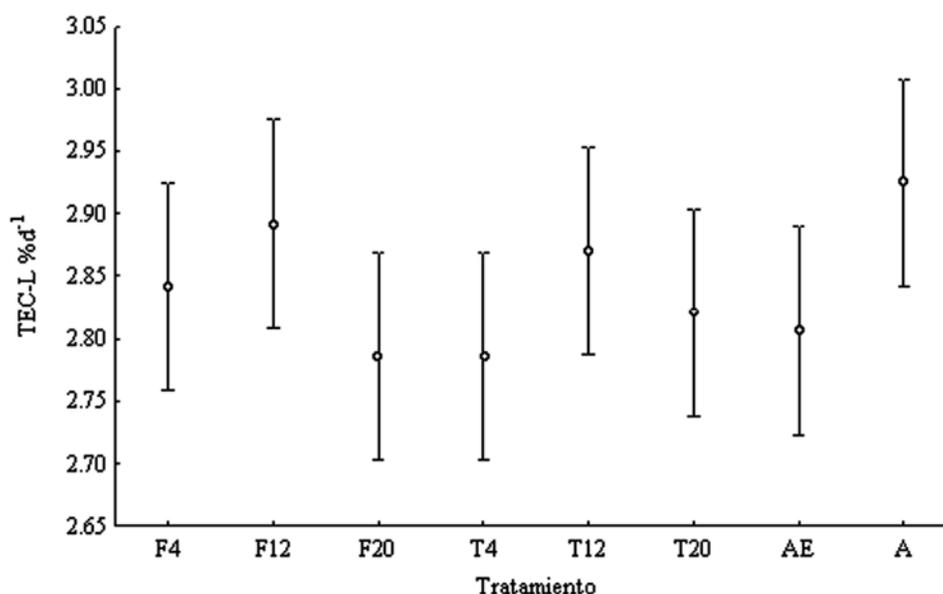


Figura 2. Tasa Específica de Crecimiento para el peso húmedo (TEC-P % d⁻¹ \pm E.E.) de la tilapia del Nilo para el período de 19 a 54 DPF.

Los resultados del análisis indicaron que F₂₀ (93 % de machos), fue significativamente superior ($P < 0,05$) a los controles A (58 %) y AE (62 %), y a los tratamientos F₁₂ (72 %), T₄ (69 %), T₂₀ (65 %) y semejante estadísticamente ($P > 0,05$) a F₄ (79 %), y T₁₂ (73 %). Los tratamientos F₄, F₁₂, T₄, T₁₂ y T₂₀, no presentaron diferencias significantes ($P > 0,05$) con respecto a los controles A y AE.

En el transcurso del ensayo, la temperatura del agua en el sistema de cultivo se mantuvo dentro

del intervalo óptimo de 27 a 28°C para juveniles de esta especie (Baras *et al.*, 2001). La aireación complementaria permitió mantener concentraciones de oxígeno disuelto superiores a las concentraciones mínimas requeridas para la especie (El-Sayed, 2006).

Se inició el ensayo de inmersión con peces de edad de 10 DPF, que presentaron un peso promedio de 0,01 \pm 0,0003 g (media \pm D.E.), y una longitud total promedio de 1,00 \pm 0,0032 cm (media \pm D.E.), coincidiendo con las tallas reportadas para larvas de

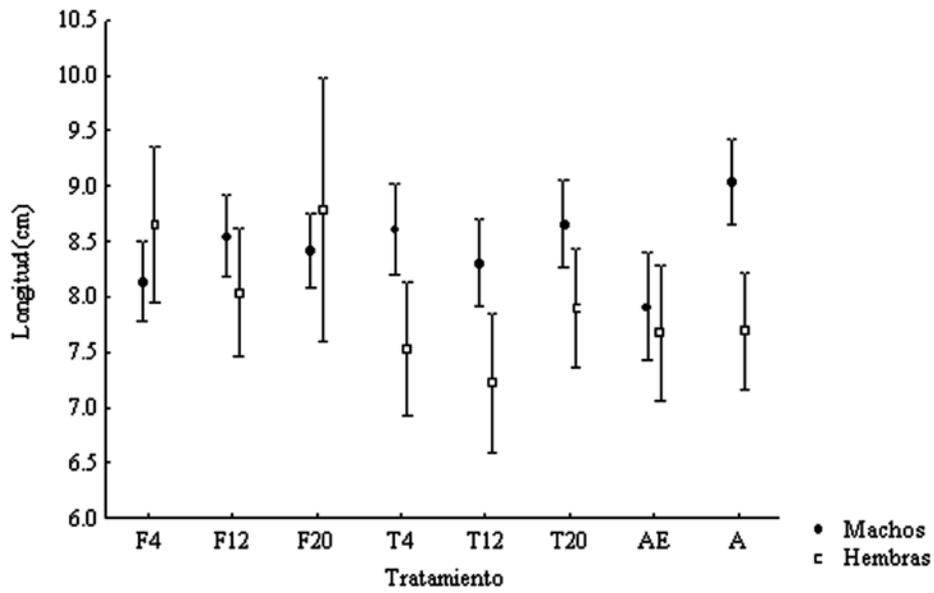


Figura 3. Crecimiento diferencial en *Oreochromis niloticus* a 138 DPF con respecto a la longitud total.

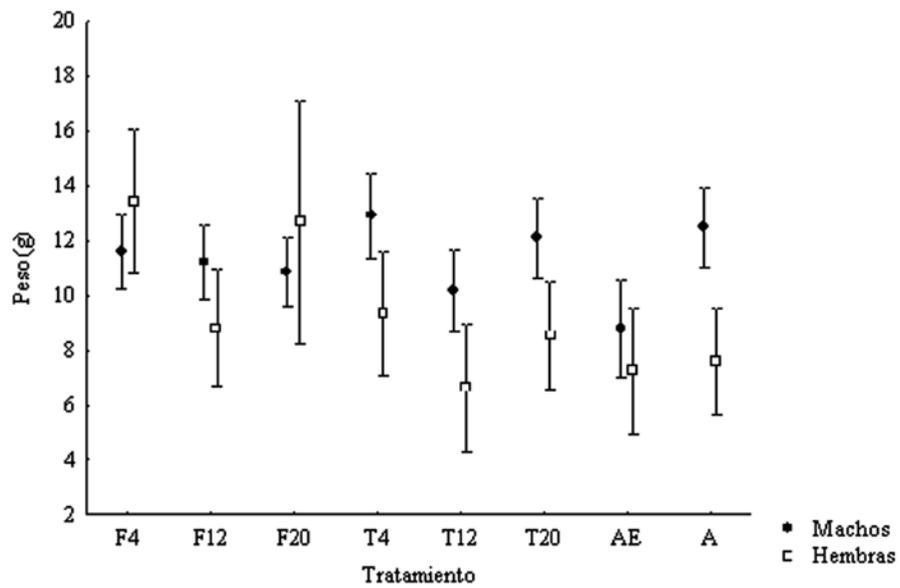


Figura 4. Crecimiento diferencial en *Oreochromis niloticus* a 138 DPF con respecto al peso húmedo.

Cuadro 3. Organismos analizados por tratamiento y porcentaje de machos en la progenie de *O. niloticus*. Índices distintos representan diferencias significativas a $\alpha = 0,05$.

	Peces analizados	% Machos
F ₄	92	79 ab
F ₁₂	103	72 a
F ₂₀	93	93 b
T ₄	85	69 a
T ₁₂	88	73 ab
T ₂₀	100	65 a
AE	68	62 a
A	102	58 a

edad similar y provenientes de la misma población de reproductores (Torres-Hernández y Márquez-Reyes, 2006).

Otros investigadores que han empleado el método de inmersión en *O. niloticus* de 10 DPF, no reportan la talla de los organismos empleados en sus experimentos (Fitzpatrick *et al.*, 1998; Gale *et al.*, 1999).

Se encontró que el suministro por inmersión de las hormonas F y T no afectó el crecimiento de los organismos para las edades de 19, 39 y 54 DPF.

A los 39 DPF el peso promedio fue similar a los reportados por Torrans *et al.* (1988) quienes registraron un peso promedio de 0,253 g y 0,267 g con mibolona y mibolona/dimetil sulfoxido, respectivamente; y los indicados por Moreno *et al.* (2003) a 35 días, con 0,24 g con F aplicada vía oral.

En un sistema de cultivo similar al empleado en el presente estudio, Torres-Hernández y Márquez-Reyes (2006), observaron organismos de 0,47 a 0,60 g en el cultivo de *O. niloticus* a 34°C, con tasas de crecimiento superiores a las obtenidas en el presente estudio. Es posible que las diferencias en el crecimiento se encuentre en relación con la edad de los organismos y la temperatura del agua, Baras *et al.* (2001), encontraron una temperatura óptima de crecimiento a 30° C para organismos con 28 días posteriores al inicio de la alimentación y en juveniles entre 27 y 28° C. Lo anterior coincide, con McConell (1982) que indica que la temperatura óptima de crecimiento es menor a medida que incrementa la edad y se reduce la tasa metabólica.

A los 54 DPF no se encontraron diferencias significativas en la TEC-L como en TEC-P, lo que indica que la técnica de suministro y las concentraciones ensayadas de F y T, no influyeron en el crecimiento. Torres-Hernández y Márquez-Reyes (2006), reportaron un efecto adverso de la F en el incremento en peso al concluir el suministro oral por 30 días, lo cual concuerda con Phelps *et al.* (1992), quienes obtuvieron tallas menores hasta en un 12,8 y 36,2% con respecto a su tratamiento control, empleando 5 y 25 mg Kg⁻¹ de F en el alimento. Al término del experimento, se observó un crecimiento superior en los machos, tanto en longitud (21,8%), como en el peso (23%) con respecto las hembras, lo cual confirma la existencia del crecimiento diferencial en *Oreochromis* (Mbahinzireki, 1999). Los resultados coinciden para la diferencia en talla (18,4 %) indicado por Torres-Hernández y Márquez-Reyes (2006), sin embargo la diferencia en peso, 31 a 42,2 %, es inferior a la reportada (Jover *et al.*, 1998).

Las hembras mostraron mayor variabilidad que los machos, tanto en talla (longitud total) como en peso húmedo, en todos los tratamientos hormonales utilizados. Esto fue más evidente en el tratamiento con F a 2.000 mg l⁻¹ (F₂₀), el cual fue también el que produjo mayor proporción masculina. Lo anterior permite suponer que la dispersión observada en talla y peso en hembras es una respuesta de la variabilidad genética de la especie a la influencia del esteroide androgénico en hembras sexualmente determinadas.

Al respecto, Gale *et al.* (1999), Contreras-Sánchez (2001) y Wasserman y Afonso (2003), reportan la mortalidad de *O. niloticus* en diversos ensayos de inmersión dentro de un intervalo de 0 a 73%; sin

embargo, no especifican si la mortalidad registrada fue provocada por la aplicación del tratamiento o por las características del sistema de cultivo. En el presente estudio, se evaluó la supervivencia a 15 días después de la aplicación de los esteroides por inmersión para establecer el efecto de esta técnica de suministro hormonal. Los datos obtenidos establecen que la mortalidad no fue influenciada por la aplicación de la hormona.

La temperatura de la solución hormonada durante la aplicación de los esteroides a los peces fue de 27,3° C en la primera inmersión y de 25,0° C en la segunda, ambas temperaturas son menores al intervalo de 28 a 30 °C comúnmente empleado en la inversión sexual por inmersión en *O. niloticus* (Gale *et al.*, 1999; Contreras y Sánchez, 2001; Wasserman y Afonso, 2003). Contreras-Sánchez (2001), analiza un intervalo térmico de 28 a 38 °C, y encuentra que la temperatura no afecta la proporción sexual obtenida por la inmersión en esteroides. No existen estudios que analicen si temperaturas inferiores a 28° C puedan afectar en la cinética del esteroide y su efecto androgénico en *O. niloticus*.

La extensión de la inmersión es un factor importante, independientemente de la hormona que se utilice. En este sentido Fitzpatrick *et al.* (1998), estudian el tiempo de aplicación de la hormona por inmersión en períodos de 2 horas, Gale *et al.* (1999), y Contreras-Sánchez (2001), emplearon 3 horas de inmersión, y Wassermann y Afonso (2003), reportan períodos de inmersión de 4 horas. Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden en indicar que inmersiones de 3 horas son efectivas en la masculinización de *O. niloticus*.

El alcohol etílico y el dimetil sulfoxido son empleados como vehículos solventes para compuestos que no se disuelven rápidamente en el agua (Castro *et al.*, 1995), como es el caso de la F y T. Los resultados del presente estudio coinciden con Contreras-Sánchez (2001) y permiten señalar el empleo del alcohol etílico como un diluyente adecuado para la administración de F y T por inmersión.

Estudios de Fitzpatrick *et al.* (1998), Gale *et al.* (1999), Contreras-Sánchez (2001) Wassermann y Afonso (2003), establecen que la técnica de inmersión en esteroides sintéticos por períodos cortos de tiempo causan masculinización en *O. niloticus*. Lo anterior, es consistente a la inversión sexual obtenida

con F (2000 $\mu\text{g l}^{-1}$). La F a una concentración de 2.000 $\mu\text{g l}^{-1}$, suministrada por dos inmersiones de 3 horas a las edades de 10 y 14 DPF, demostró ser el tratamiento con mayor eficiencia en la inversión sexual masculina.

La proporción sexual de 93 % de organismos machos, permite considerar a la F, a una concentración de 2000 $\mu\text{g l}^{-1}$, como un esteroide eficiente en las técnicas de inversión sexual por inmersión en cortos períodos de tiempo. Los resultados son comparables a otras hormonas que han sido evaluadas y que han permitido obtener progenies de *O. niloticus* con proporciones masculinas superiores al 90 %, como: trembolona acetato (Fitzpatrick *et al.*, 1998; Contreras-Sánchez, 2001), 17 α -metildihidrotestosterona (Gale *et al.*, 1999; Wassermann y Afonso, 2003) y 17 α -metilttestosterona (Wassermann y Afonso, 2003; López *et al.*, 2007).

La F ya había demostrado su eficiencia en la inversión sexual masculina en tilapia del Nilo, empleándose en suministro oral por 28 días con concentraciones de 2,5 a 5 mg kg^{-1} (Phelps *et al.*, 1992; Jiménez y Arredondo 2000; Moreno *et al.*, 2003; Torres-Hernández y Márquez-Reyes, 2006).

Los resultados demuestran la eficiencia de F suministrada a larvas de tilapia del Nilo en períodos de inmersión por 3 horas, y dan pauta a realizar mayor investigación para optimizar su empleo en la producción de poblaciones de sexo masculino, considerando la eliminación de las hormonas residuales del sistema de cultivo y la seguridad del personal encargado de aplicar esteroides en los centros de producción.

CONCLUSIONES

El método de inmersión en F y T no afectó a la supervivencia y el crecimiento en la progenie *O. niloticus*.

La masculinización obtenida con el tratamiento por inmersión en F F_{20} (2000 $\mu\text{g l}^{-1}$) permite considerar la aplicación del esteroide por inmersión como un procedimiento eficiente para la masculinización de la progenie de la tilapia. Se recomienda realizar nuevos ensayos para optimizar su empleo.

AGRADECIMIENTOS

A los integrantes del Laboratorio de Acuicultura de la Universidad del Mar *campus* Puerto Ángel por las

facilidades ofrecidas durante el desarrollo del trabajo experimental. Así como a Maria Nieves Trujillo Tapia, Kathleen Brown, y a los revisores anónimos por sus sugerencias y comentarios que mejoraron el presente documento.

LITERATURA CITADA

- Abucay S., C. Mair, F. Skibinski and A. Beardmore. 1999. Environmental sex differentiation: the effect temperature y salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture* 173: 219-234.
- Baras E., B. Jacobs and C. Mélard. 2001. Effect of water temperatura on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX-XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 192:187-199.
- Carvalho E. D. and F. Foresti. 1996. Sex reversal in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* Trewavas, 1983, induced by 17 alpha-methyltestosterone: sex ratio and histological studis on the gonads. *Revista Brasileira de Biología* 56(2): 249-262.
- Castro C. A., J. B. Hogan, K. A. Benson, C. W. Saeta and M. R. Landauer. 1995. Behavioral effects of vehicles: DMSO, Etanol, Twen-20, Twenn-80, and Emulphor-620. *Pharmacol. Biochem. Behar.* 50: 521-526.
- Contreras-Sánchez W. 2001. Sex determination in Nile Tilapia, *oreochromis niloticus*: Gene Expression, masculinization Methods, and Environmental Effects. Tesis Doctoral. Oregon State University. Estados Unidos de América. pp 193.
- Desprez D. and C. Mélard. 1998. Effect of ambient water temperature on sex determination in the blue tilapia *Oreochromis aureus*. *Aquaculture* 162:79-84.
- Devlin R. H. and Y. Nagahama. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and enviromental influences. *Aquaculture* 208 : 191-364.
- El-Sayed A. F. 2006. Tilapia culture. Ed. CABI Publishing. Cambridge, Estados Unidos de América. Ima Ed.
- Fitzpatrick S., S. Contreras, H. Milston, L. Michael and W. Feist. 1998. Steroid immersion for masculinization of tilapia. Oregon State University Corvallis, USA. *Global research.* pp 7-12.
- Gale L., S. Fitzpatrick, S. Contreras and B. Schreck. 1999. Masculinization of Nile (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens. *Aquaculture.* 178:349-357.
- Green B. W., K. L. Veverica and M. S. Fitzpatrick. 1997. Fry and fingerling production. **In:** Egna H. y C. Boyd (Eds.), *Dynamics of pond Aquaculture.* CRC Press, Boca Ratón, FL., pp. 215-243.
- Guerrero R. D. and W. L. Shelton. 1974. An acetocarmine squash technique for sexing juvenile fishes. *The Progressive Fish-culturist.* 36, p 56.
- Hair J. F. Jr., R. E. Anderson, R. L. Tatham y W. C. Black. 1999. Análisis multivariante. Quinta edición. Prentice Hall, Madrid. p 832.
- Hopkins D. 1992. Reporting fish growth: A review of the Basics. *Journal of the world aquaculture society* 23(3): 173-179.
- Jiménez B. y F. Arredondo. 2000. Manual técnico para la reversión sexual en Tilapia. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, D. F. p 37.
- Jover C. M., I. L. Perez, L. Zaragoza y C. L. Fernández. 1998. Crecimiento de tilapias (*Oreochromis niloticus* L.) con pienzos extrusionados de diferente nivel proteico. *Archivos de Zootecnia* 47 (177):11-20.
- López C. A., D. L. Carvajal y M. C. Botero 2007. Masculinización de la tilapia roja (*Oreochromis spp*) por inmersión utilizando 17 alfa-metiltestosterona. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 20: 318-326.
- Macintosh D. J. and D. C. Little. 1995. Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **In:** R. Niall, y J. Ronald (Eds.) *Broodstock management and egg and larval quality.* Blankwell Science, Cambridge. pp. 277-320.
- Mair G. C. and D. C. Little. 1991. Population control in farmed tilapia. *NAGA. ICLARM Q.* 14(3):8-13.

- Mbahinzireki G. B. 1999. Tilapia, *Oreochromis sp.* (L.) Sex Reversal and Performance on Alternative Sources of Protein. Dissertation Abstracts International Part B: Science and Engineering (5):19-29.
- McConnell R. H. L. 1982. Tilapias in fish communities. Pp: 83-113. **In:** Pullin, R. S. V., Lowe Mc Connell R.H. (ed), The Biology and Culture of Tilapias. ICLARM Conf. Proc. Manila, Philippines.
- Mendehhall W. and T. Sincich. 1996. A second course in statistics, Regression Analysis. Fifth edition. Prentice-Hall, Inc. Simon & Schuster. A Viacom Company Upper Saddle River, New Jersey. USA. p 899.
- Moreno E., C. Rodríguez, S. Barriga, y F. Arredondo. 2003. Producción de Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) masculinizada con la hormona Fluoximesterona en sistemas cerrados de recirculación. UAM Iztapalapa, México. p 77- 88.
- Nakamura M. and M. Iwahashi. 1982. Studies on the practical masculinization in *Tilapia nilotica* by the oral administration of androgen. Boletín of the Japanese Society of Scientific Fisheries 48(6): 763-769.
- Nakamura M., T. Kobayashi, X. Chang y and. Nagahama. 1998. Gonadal Sex Differentiation in Teleosteos Fish. The Journal of Experimental Zoology 281: 362-372.
- Owusu-Frimpong M. and B. Nijjhar. 1981. Induced sex reversal in *Tilapia nilotica* (Cichlidae) with methyltestosterone. Hydrobiología 78: 157-160.
- Pandian J. and G. Sheela. 1995. A review of Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture. 138: 1-22.
- Phelps R. P., W. Cole, and T. Katz. 1992. Effect of fluoxymesterone on sex ratio and growth of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L). Aquacult. Fish. Man. 23: 405-410.
- Pillay R. 1997. Acuicultura: Principios y prácticas. LIMUSA (eds). México, D.F. p 699.
- Ridha T. and M. Cruz 2000. Effect on light intensity and photoperiod on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L seed production. Aquaculture 31: 609-617.
- Tayamen M. M. y W. L. Shelton. 1978. Inducement of sex reversal in *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus). Aquaculture 14: 349-354.
- Torrans L., F. Meriwether and Lowell. 1988. Sex-Reversal of *Oreochromis aureus* by immersion in Mibolerone, a Synthetic Steroid. Journal of the World Aquaculture Society 19 (3): 97-102.
- Torres-Hernández P. y L. A. Márquez-Reyes. 2006. Efecto de la temperatura y del suministro oral de Fluoximesterona en la proporción sexual y crecimiento en *Oreochromis niloticus* (Aetinopterygii: Cichlidae). Ciencia y Mar. 10 (30): 3-10.
- Vera Cruz. E. and G. C. Mair. 1994. Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). Aquaculture 122:237-248.
- Wassermann G. and L. Afonso. 2003. Sex reversal in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) by androgen immersion. Aquaculture Research 34: 65-71.
- Weatherley A. H. and H. S. Gill. 1987. The Biology of Fish Growth. Academic Press. p 443.
- Yamamoto T. 1969. Sex differentiation in: Fish physiology. Academic Press, New York 3: 117-175.
- Zar J. H. 1996. Biostatistical Análisis. Ed Prentice Hall. Estados Unidos de América 3a Ed.