

103  
2es.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**REVERSION SEXUAL EN TILAPIA**  
**Oreochromis urolepis hornorum**

**FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**B I O L O G O**

P R E S E N T A :

**GERARDO MEZA GALVAN**



MEXICO D.F.

AGOSTO 1995

FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:  
REVERSION SEXUAL EN TILAPIA *Oreochromis urolepis hornorum*.

realizado por GERARDO MEZA GALVAN.

con número de cuenta 7114685-2 , pasante de la carrera de BIÓLOGO.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

Propietario

Propietario

Suplente

Suplente

DOCTOR JOSE LUIS ARREDONDO FIGUEROA

BIOLOGA ROSA MARTHA ORTEGA LOJERO

DOCTOR HECTOR GARDUÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS

M. en C. MARIA TERESA CASTELLON OSORIO

M. en C. SILVIA TORAL ALBAZAN

Consejo Departamental de Biología

*[Firma manuscrita]*  
SECRETARIO GENERAL  
DE BIÓLOGIA

*[Firma manuscrita]*  
M. Ortega L.  
*[Firma manuscrita]*

## AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES:

ABRAHAM (q.e.p.d.) Y MARIA LUISA

*PORQUE A COSTA DE MUCHOS SACRIFICIOS Y AMOR  
PROCURARON DARME TODO LO NECESARIO PARA MI  
EDUCACION*

A MIS HERMANOS:

JORGE Y DAVID

*POR SU COMPRESION*

A MI ESPOSA:

SILVIA

*POR SU AMOR Y MOTIVACION*

**A MIS ASESORES:**

**DR. JOSE LUIS ARREDONDO FIGUEROA**

**BIOLOGA ROSA MARTHA ORTEGA LOJERO**

**DOCTOR HECTOR GARDUÑO ARGUETA**

**M. EN C. MARIA TERESA CASTREJON OSORIO**

**M. EN C. SILVIA TORAL ALMAZAN**

***POR SUS INVALUABLES CONSEJOS Y ANIMO  
PARA LA TERMINACION DE ESTE TRABAJO***

**CON ESPECIAL AGRADECIMIENTO**

**A MI GRAN AMIGO Y COMPAÑERO DE GENERACION  
(1975-1995)**

**PASCUAL CABAÑAS  
Y SU ESPOSA IRMA GALAN**

***DE QUIENES RECIBI EL IMPULSO NECESARIO PARA  
ACOMETER ESTE TRABAJO***

**AL COACH CLEMENTE CARMONA H.**

***POR SU EJEMPLO***

**AL COACH JOSE ANTONIO SANDOVAL V.**

***POR SU ENORME APOYO PARA LA ELABORACIÓN DE  
ESTE TRABAJO***

**(A ROSSY Y FABIOLA POR TODAS LAS MOLESTIAS CON LA  
COMPUTADORA)**

**¡DIOS LOS BENDIGA A TODOS!**

# CONTENIDO.

Página

RESUMEN .....	3
<b>I INTRODUCCIÓN.</b>	
1.1 LAS TILAPIAS EN MÉXICO. ESPECIES PRESENTES .....	3
<b>II. ANTECEDENTES.</b>	
2.1 LA TILAPIA <i>Oreochromis urelopis hornorum</i> EN MÉXICO. ....	6
2.2 MÉTODOS PARA CONTROLAR SU REPRODUCCIÓN. ....	7
2.3 REVERSIÓN SEXUAL. ....	9
2.4 DOSIS DE HORMONAS EMPLEADAS EN EL MÉTODO DE REVERSIÓN SEXUAL. ....	12
2.5 DURACIÓN DEL TRATAMIENTO. DIFERENCIACIÓN GONADAL Y LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA. ....	14
2.6 DENSIDAD DE CONFINAMIENTO DE LOS ALEVINES Y CRECIMIENTO. ....	16
III. OBJETIVOS. ....	20
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODO.</b>	
4.1 OBTENCIÓN DE LOS ALEVINES. ....	21
4.2 CONFINAMIENTO DE LOS ALEVINES Y TINAS DE TRATAMIENTO. ....	24
4.3 PREPARACIÓN DEL ALIMENTO Y ALIMENTACIÓN DE LOS ALEVINES. ....	26
4.4 COMPROBACIÓN DE LA REVERSIÓN SEXUAL POR MEDIO DEL SEXADO MANUAL. ....	28
4.5 CRECIMIENTO DE LOS ALEVINES DE <i>Oreochromis urelopis hornorum</i> . TRATAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS. ....	30



<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
<b>VI. DISCUSIÓN.....</b>	<b>39</b>
<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>VIII. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>44</b>
<b>IX. LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>48</b>
<b>X. LISTA DE TABLAS.....</b>	<b>49</b>
<b>XI. LISTA DE FOTOGRAFÍAS. Y APENDICE.....</b>	<b>50</b>
<b>TABLAS.....</b>	<b>51-64</b>
<b>FOTOGRAFÍAS.....</b>	<b>65-71</b>
<b>APENDICE.....</b>	<b>72</b>

## **Resumen.**

Es necesario canalizar la energía disponible en los cultivos de tilapia hacia un crecimiento rápido y eficiente mediante la eliminación de la reproducción incontrolada. La línea de investigación que se ha seguido en los últimos años es el método de reversión sexual.

La efectividad de las hormonas sintéticas para inducir la reversión sexual en Oreochromis spp. está bien documentada; así como la eficacia de ciertos andrógenos para lograr la obtención de alevines todos machos, particularmente de la 17- $\alpha$ -metiltestosterona.

Se logró revertir el sexo con un porcentaje del 100% en alevines de Oreochromis urolepis hornorum mediante la administración de la 17- $\alpha$ -metiltestosterona en dosis de 60 mg por kilogramo de alimento en la dieta, determinándose que el tiempo óptimo para el tratamiento de 5, 10 y 15 mil alevines/m<sup>2</sup> es de 28 días a  $24 \pm 0.5$  °C en tinas de fibra de vidrio de 1.9 m de diámetro, bajo techo y en condiciones óptimas de oxigenación, calidad de agua y alimentación.

## **I. Introducción.**

### **1.1 Las tilapias en México.**

Las tilapias o mojarra africanas llegaron a México en 1963, procedentes de la Universidad de Auburn, E.E.U.U. y fueron llevadas a la Estación de Acuicultura Tropical en Temascal, Oaxaca. Una vez obtenidas las primeras crías fueron introducidas en diferentes cuerpos de agua, principalmente presas de reciente

construcción. Uno de los primeros embalses sembrados con tilapia fue la Presa Temascal en el Estado de Oaxaca, donde la producción tuvo su mejor momento en 1975 cuando la captura alcanzó las 6,000 toneladas para después disminuir hasta poco más de mil toneladas en 1980. Otra pesquería derivada de la siembra original se estableció en la Presa del Infiernillo (350 km<sup>2</sup>). Se inició en 1972 y en la actualidad produce casi 14,000 toneladas anuales (Cabrera y García, 1982).

Hoy se le puede encontrar en los lagos más importantes de México como son Chapala y Pátzcuaro, en las mayores presas como Miguel Alemán (Temascal), La Angostura, Nezahualcoyotl, Chicoasén, El Marqués, Falcón Internacional, La Villita, Vicente Guerrero, además de innumerables cuerpos de agua menores (Cabrera y García, 1982).

Los efectos benéficos, tanto alimentarios como económicos que se derivaron del cultivo de estas especies ha generado a nivel nacional más de 10 mil empleos directos, produciendo de 1972 a 1987 alrededor de 270,000 toneladas (Morales *et al.*, 1988).

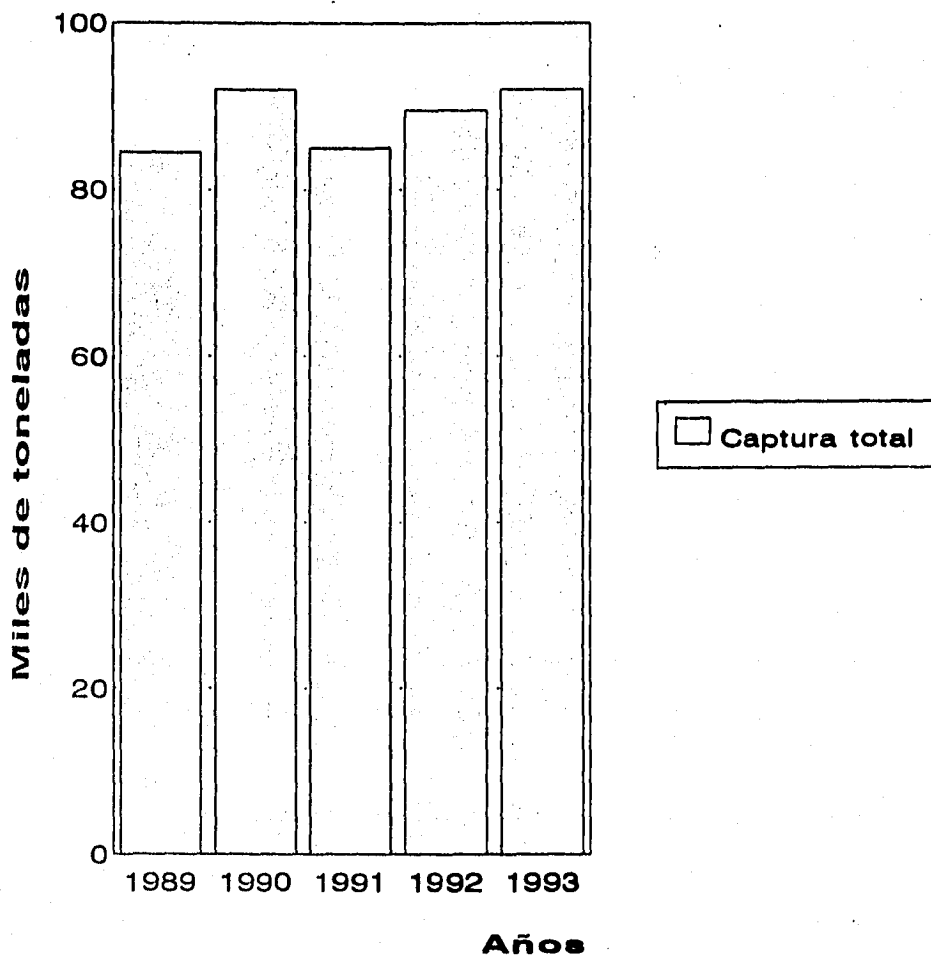
Acerca de su demanda, el consumo nacional aparente fue de 89,122 toneladas en 1993 y el consumo *per capita* fue de 1.035 kg, este último es superior al de los principales productos acuícolas como el camarón, ostión, bagre, carpa y trucha. (SEPESCA, 1993, Fig. 1).

En lo que respecta a su impacto ecológico, con frecuencia se ha advertido sobre el peligro de la introducción indiscriminada de la tilapia en los ecosistemas naturales, pues es conocida la capacidad de ésta para desplazar a especies autóctonas y provocar cambios en la estructura de las comunidades.

Al momento se cuenta en México con cinco especies, una variedad y un híbrido que, al parecer, no lo es, ya que en condiciones de cultivo, éste tiene la capacidad de reproducirse entre sí, por lo que su estado de híbrido infértil "queda en tela de juicio" (Arredondo y Guzmán, 1985).

En la Tabla 1 se presenta la relación de las distintas especies de Tilapia introducidas en México, arregladas de acuerdo con los criterios de Thys y Trewavas, citados por Arredondo y Guzmán (1985).

**Fig. 1 Producción Nacional de Tilapia (*Oreochromis* spp.).**  
**(Anuarios Estadísticos de Pesca, SEPESCA, 1993).**



## II. ANTECEDENTES.

### 2.1 La tilapia Oreochromis urolepis hornorum en México.

El cultivo extensivo de la tilapia había permanecido limitado exclusivamente en presas y cuerpos de agua hasta 1981, pero a partir de entonces se inició una operación muy ambiciosa para cultivarla en jaulas. La tilapia Oreochromis urolepis hornorum nativa de Zanzibar y de la costa oriental africana, introducida a Malasia y más recientemente a Costa Rica, llegó a México importada por la Secretaría de Pesca por conducto de la Dirección General de Acuacultura en el año de 1981 cuando el Gobierno mexicano estableció un contrato con la compañía Natural Systems, radicada en Palmeto, Florida, E.E.U.U.; y fue depositada en la estación de reproducción piscícola "El Rodeo" en el Edo. de Morelos. Después de algunos meses fue distribuida para su cultivo intensivo por medio de paquetes tecnológicos que incluían la metodología, los reproductores, jaulas de 60 X 60 X 2.20 m con 4 ó 5 nidos en forma de cubetas, audiovisuales y todos los insumos necesarios. En teoría la cruce del macho de Q. u. hornorum con la hembra de Q. mossambicus roja permitía obtener híbridos 100% machos y de color rojo. Estos módulos fueron distribuidos y llevados a los Centros Acuícolas de Temascal, Oaxaca; Teapa, Tabasco y Los Amates, Veracruz, entre otros. Desafortunadamente no se obtuvieron los resultados esperados a pesar de su elevado factor de condición, ya que en las jaulas se deben introducir organismos pequeños y al cosechar la hembra liberaba los huevos (Cabañas L., P. com. pers.).

En síntesis esta tecnología no operó ni funcionó como era debido y se presentaron serios problemas por lo que tuvo que abandonarse y adaptar otras metodologías para la obtención de alevines.

Teniendo la capacidad para crecer consumiendo una amplia variedad de alimentos naturales y artificiales, las tilapias Q. urolepis hornorum son peces robustos, con el lomo alto y con una gran proporción utilizable de carne blanca, firme y sin huesos intermusculares, siendo excelentes para el consumo. Se le encuentra tanto en los mercados modestos como en los de autoservicio. Se vende en formas variadas: fresca entera, fileteada y en barras congeladas. Su precio es accesible para el consumidor con poder adquisitivo medio y

alto. Se le prefiere a la carpa y compete con la trucha y la lisa. Miles son las personas beneficiadas con la pesca de la tilapia, el procesamiento, el comercio y naturalmente el consumo. La tilapia, para algunas regiones, ha resultado un activador económico de consideración (Cabrera y García, 1982).

La desventaja que presenta su cultivo es que se reproducen cuando sólo tienen unos meses de vida, frecuentemente por debajo del peso requerido para el mercado. Su cría en estanques sin control da como resultado una sobrepoblación, mezcla de edades, dificultad en el sexado y competencia por el alimento. Su elevada agresividad y su precocidad reproductiva marcan una influencia negativa en su tasa de crecimiento por lo que disminuye la calidad de la cosecha.

## 2.2 Métodos para controlar su reproducción.

La mayoría de las líneas en la investigación de su cultivo han sido dirigidas hacia la solución de la reproducción incontrolada, aplicando los esfuerzos en eliminarla y canalizar la energía disponible hacia su crecimiento rápido y eficiente.

Algunos de los métodos usados se describen a continuación:

a) **Hibridación.** Consiste en la cruce de dos especies: el macho de O. u. hornorum con la hembra de O. mossambicus (Hickling, citado por Rothbard *et al.*, 1983) que da como resultado una descendencia de machos solamente o que contenga un alto porcentaje de machos. Los híbridos no resultaron estériles, sino que fueron fértiles y capaces de reproducirse. La principal desventaja de este método es la necesidad de mantener líneas puras, las cuales pueden perder su vigor genético y causar un decremento en la proporción macho-hembra en la descendencia.

b) **Manipulación cromosómica y tratamiento hormonal.** Se utiliza para producir poblaciones de organismos todos machos y todos triploides estériles, mediante "shocks" de calor (Pandian y Varadaraj, 1988). Se sabe que en varias especies de peces el "shock" térmico produce triploidia y tetraploidia pero no se sabe si estos poliploides resultan de la inhibición de la segunda división meiótica o a la retención del

segundo cuerpo polar. Sin embargo, para alcanzar la triploidia se tienen que fijar precisamente, tanto la duración como el nivel de la temperatura para efectuar el "shock" de frío y/o calor. Esta característica parece variar de especie a especie. La manera de asegurarse que ha ocurrido la triploidia es mediante el examen del cariotipo de los alevines, contándose el número de los cromosomas.

El mejor tratamiento basado en los porcentajes que se obtienen de triploidia y de supervivencia es la aplicación de un "shock" de 42 °C por un periodo de 3 minutos a los huevos de 2.5 minutos de edad (Pandian y Varadaraj, 1988). La inducción de triploidia por medio de "shocks" de calor parece estar relacionada directamente con la duración del "shock" e inversamente con la sobrevivencia.

c) Uso de depredadores. Bardach *et al.* (1972) recomendaron el uso de aquellos depredadores que incidan sobre los peces de talla pequeña consumiéndolos y eliminándolos del cultivo. Este método se ha enfrentado con varios grados de éxito (Lovshin y DaSilva, citados en Guerrero, 1975). Sin embargo, el efecto del depredador puede ser inadecuado o demasiado fuerte (Huet, citado en Balarin, 1979).

d) Cultivo en altas salinidades. Se inhibe la reproducción debido a las salinidades del orden de 36 a 46, por lo tanto se limita a lugares con estas características (Chervinski y Yashov, citados en Guerrero, 1975).

e) Esterilización a base de radiaciones Gamma. Es un método complicado, sofisticado y costoso (Al-Daham, citado en Guerrero, 1975). El uso de la represión hormonal de las gónadas femeninas (Guerrero, 1975) también es controversial.

f) Cultivo en jaulas. Los organismos deberán ser llevados a una talla adecuada cultivando hembras y machos, donde éstos crecen con mayor rapidez, requiriéndose de una dieta adecuada. La construcción de las jaulas es costosa y su período de utilidad es corto (Pagan, citado en Shelton *et al.*, 1978).

g) Siembra a tasas de alta densidad. Fue sugerido por Allison *et al.*, citados en Guerrero, 1974. La desventaja de este método es que en la cosecha se obtienen peces con un tamaño muy pequeño.

h) Cultivos monosexo. En este cultivo se lleva el crecimiento de los alevines hasta un tamaño en que pueda determinarse el sexo, de 10 a 12 cm y se seleccionan los machos mediante el examen de la papila urogenital, eliminando a las hembras. Este método requiere inversiones en estanques, agua, alimentación y trabajo

manual de personas capacitadas (Yashov y Hefetz, citados por Guerrero, 1974). El inconveniente principal es la pérdida de tiempo, ya que las hembras son descartadas hasta que alcanzan el tamaño para ser sexadas, de tal manera que sólo es rentable parcialmente.

### **2.3 Reversión Sexual.**

Para atacar el problema de la sobrepoblación en los cultivos, la reversión sexual es uno de los métodos más efectivos. Se puede obtener una población monosexo a través de la reversión sexual inducida por hormonas, de tal manera que se interfiera con el mecanismo para la determinación del sexo en la mitad de la población. Si se desea una población compuesta solamente de machos, se administra un andrógeno a un conjunto de alevines, con esto las hembras genéticas son inducidas a desarrollarse como machos funcionales, sin que los machos genotípicos sean afectados.

Este método fue desarrollado en la Universidad de Auburn, Alabama, E.E.U.U., para producir poblaciones de *Oreochromis* spp. compuestas solamente de machos; posteriormente fue revisada por Shelton *et al.*, (1978) y su potencial ha sido demostrado por Guerrero (1974, 1975) bajo condiciones experimentales.

El fundamento teórico de este método radica en que " la determinación del sexo en peces, está compuesta por la superposición de factores genéticos y ambientales; éstos pueden influir mediante el suplemento de algunas sustancias que se requieren para la expresión del sexo cromosómico; al incrementar el nivel de andrógeno en la sangre, se provoca la inhibición de la formación de oogonias en hembras genéticas, convirtiéndose en machos funcionales. " (Vázquez y Sánchez, 1988).

La determinación del sexo, o el potencial para desarrollarse en macho o hembra se fija en la fertilización cuando el número del cromosoma diploide es reestablecido. Según Harrington (citado en Shelton *et al.*, 1985) el sexo genético está determinado por los cromosomas sexuales y otros cromosomas pares que poseen los factores determinantes para hembra o macho.



La existencia de cromosomas sexuales en Teleósteos se ha demostrado por medios genéticos pero la identificación citológica no es siempre posible (Vanyakina, citado en Shelton *et al.*, 1978).

Funcionalmente, los cromosomas sexuales están presentes y usualmente determinan el sexo genético del pez, pero frecuentemente, con alguna influencia de los genes de los autosomas (Yamamoto, citado en Shelton *et al.*, 1978).

El mecanismo que se presume actúa para la determinación del sexo en *Oreochromis* spp. es aquel en el cual el sexo está determinado por cromosomas sexuales, el primero en proponer esto fue Chen, citado en Tave, (1988), para explicar la producción de híbridos interespecíficos de una F1 todos machos. Desde entonces, estudios sobre la reversión sexual realizados por Jalabert, Guerrero, Shelton y Calhoun, citados en Tave (1988), han sugerido que los cromosomas sexuales juegan un papel principal en la determinación del sexo.

La determinación del sexo también es controlada por los autosomas que influyen el sexo o genes que modifican el sexo (Shelton citado en Tave, 1988), los datos experimentales obtenidos sugieren decididamente que éstos juegan un papel de suma importancia. Se han propuesto dos teorías acerca de los genes sexuales de los autosomas para ayudar a explicar la determinación del sexo en Tilapia: Avtalion y Hammerman, citados en Tave (1988), proponen que el sexo en los híbridos F1 está influenciado por dos genes no ligados. Esta teoría explica algunas de las tasas inusuales que se han observado en estudios de hibridación, ya que algunas no pueden ser explicadas.

Avtalion y Hammerman, citados en Tave (1988), modificaron su teoría asignándoles diferentes fuerzas a los *loci* que determinan el sexo, ésta modificación explica tasas que no pueden ser explicadas a su vez por el modelo original. Moay, sin publicar: citado en Tave (1988), propuso que el sexo está determinado por cromosomas sexuales y por un gene autosómico sencillo determinante del sexo que tiene múltiples alelos. Esta influencia externa cambia la acción de los factores genéticos para la determinación del sexo, alterando la diferenciación de la gónada. Se consideran a los esteroides como los inductores naturales del sexo. Los

andrógenos pueden provocar que las hembras genéticas se desarrollen en machos funcionales y los estrógenos pueden inducir a los machos genéticos a desarrollarse en hembras.

El tratamiento de los alevines de Oreochromis spp. sexualmente lábiles con 17- $\alpha$ -metilttestosterona ha producido repetidamente poblaciones compuestas 100% de machos, aún y cuando las variaciones en las condiciones del tratamiento, tales como la densidad de confinamiento y la temperatura han producido resultados inconsistentes. El éxito depende de la eficiencia del fármaco, así como de la dosis, método de administración, tiempo y duración del tratamiento, además de que debe ser fácil de aplicar y económicamente rentable. La hormona MT deberá suministrarse en el estadio de gónada indiferenciada y a través del período de diferenciación gonadal (Yamamoto, citado en Guerrero, 1974).

La eficiencia de la administración es mayor a través de la vía oral (Vanyakina y Schreck, citados en Shelton, 1978), siendo la adición al alimento el método más conveniente, pero éste procedimiento requiere que la dieta preparada sea aceptada por los peces y que la hormona soporte la acción catabólica en el intestino e hígado. En cuanto a la resistencia al catabolismo, dosis débiles pueden ser inefectivas, así como las sobredosis pueden causar inhibición gónadal (Yamamoto, citado en Guerrero, 1974 ; Eckstein y Spira, 1965).

Los efectos anabólicos de los andrógenos han sido considerados en algunas especies de Oreochromis (Yamazaki, McBride y Fagerlund, citados por Shelton *et al.*, 1978). Desde el punto de vista de la producción de poblaciones monosexo-machos, el tratamiento es tan breve que difícilmente contribuye al crecimiento.

Jo *et al.* (1988), demostraron que la MT tiene un efecto anabólico aún a niveles tan bajos como 1 mg/kg de alimento en la dieta, pero dándoles tanto alimento como puedan consumir.

Aún tiene que ser confirmado por razones obvias, que los peces tratados con hormonas sintéticas para revertir el sexo, sean seguros o no para el consumo humano. Una breve revisión de la literatura sobre el uso médico de las hormonas Etinilttestosterona y Metilttestosterona muestra que son ampliamente utilizadas para propósitos terapéuticos, señalando que al momento actual la acción de los andrógenos no es cancerígena para el hombre. Los andrógenos son ampliamente utilizados en medicina para la terapia de ciertos tumores

(Guerrero, 1974). La ET tiene una actividad antifibromatogénica, la MT es usada para terapias de larga duración en desórdenes tales como hipogonadismo y deformidad de la pituitaria en humanos. Ha sido usada en la práctica médica también como promotora del crecimiento en casos de sub-normalidad y en deficiencia de andrógenos (Dortman y Shipley, citados por Guerrero, 1974). Asimismo, Dortman cree que los metabolitos de la ET y la MT son seguros para el consumo humano. La combinación concentrada de MT y sus metabolitos en la sangre y tejidos fueron generalmente más altas que las reportadas previamente para testosterona, lo cual puede explicar el mayor efecto anabólico de la MT (Fagerlund y McBride, 1979). Con los bajos niveles de la dosis y el largo intervalo entre el tratamiento y el tiempo de consumo, puede ser sugerido que los peces tratados con andrógenos sintéticos para la reversión sexual, son seguros para el mercado. (Guerrero, 1974).

#### **2.4 Dosis de hormonas sintéticas empleadas en el método de reversión sexual.**

Las dosis de andrógenos que se han utilizado para la reversión sexual están dentro del intervalo de 5 a 60 mg de 17- $\alpha$ -metiltestosterona (MT) por kilogramo de alimento en la dieta. En la Tabla 2. se muestran las dosis que se han utilizado y el porcentaje de machos obtenido en diferentes especies, así como su relación con la temperatura, ración alimenticia, edad o longitud de inicio del tratamiento y su periodo de duración.

Como podrá apreciarse la tendencia viene a ser la de disminuir la dosis; Obi, citado por Shelton *et al.* (1978), encontró que a dosis más bajas existe mayor efectividad; debido sobre todo a que las dosis altas de MT-60. según Guerrero (1975), provocan una degeneración aparente del epitelio germinal en los testículos de los peces tratados, con una marcada proliferación del tejido conectivo. Yamamoto (1969), señaló que la sobredosis puede causar inhibición gonadal, además de que en un tratamiento de larga duración se presenta una papila urogenital atípica.

Macintosh *et al.* (1988). señalaron que comparando los tratamientos con MT a dosis de 40 y 60. la dosis más baja resultaba más efectiva. Asimismo, la dosis de MT-60 tiene un efecto más que anabólico temporal sobre el crecimiento, con un efecto depresor sobre el testículo, quizá ligado a reducir la fertilidad y la

actividad sexual; en tanto que en las hembras se presentaron los ovarios alargados anormalmente y los huevos con fluido.

Pandian y Varadaraj (1988), recomiendan bajar la dosis pero incrementar la ración alimenticia al 30%. Fishelson (1988), analizó las muestras de alevines tratados en la granja del Kibbutz-Gan-Shmuel en Israel, encontrando dos anomalías principales en los ovarios femeninos: un desarrollo anormal del saco vitelino y ambisexualidad (presencia de quistes espermatogoniales). Encontró que la gónada adulta de los peces tratados era masculina con unos pocos ovocitos dispersos. Estos peces intersexos se desarrollarán más tarde en machos fenotípicos con los testículos en varias etapas de la espermatogénesis, frecuentemente con muy pocos remanentes de ovocitos, pero con tejido intersticial extenso comparado con el normal. Se desconoce si más tarde puedan desarrollarse en machos funcionales.

Pandian y Varadaraj (1988), trabajando en la reversión sexual en O. mossambicus diseñaron una serie de experimentos para evaluar la interacción entre la ración alimenticia conteniendo MT, la dosis de ésta hormona y la duración del tratamiento. "Dentro del tratamiento se establece una jerarquía entre los alevines para alimentarse de la hormona, consecuentemente un individuo dominante ingiere más de la dosis crítica mínima y puede llegar a sufrir los efectos laterales. Un organismo sumiso ingiere menos de la dosis crítica y puede permanecer hembra o transformarse en intersexo". Obtuvieron como resultado que independientemente de los cambios en la ración alimenticia (del 10 al 30% del peso corporal) los alevines que ingirieron 5 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta durante un período mínimo de 19 días fueron todos machos. Dosis inferiores dieron como resultado algunas hembras o intersexos.

La administración de MT a los alevines de 6 ó 9 días de edad durante un período de 11, 14, 16 ó 19 días indujo la masculinización al 100%. Si el tratamiento se acorta a menos de 9 días o se comienza 13 días después de la eclosión, la reversión falla. Por lo que concluyeron que el tratamiento de los alevines deberá realizarse entre los días 10 y 20 después de la eclosión y deberán ingerir 5 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta, como la dosis crítica mínima, para asegurar el 100% de machos.

## **2.5 Duración del tratamiento, diferenciación gonadal y la influencia de la temperatura.**

La duración del tratamiento se ha basado en la obtención de la longitud a la cual la diferenciación gonadal se ha completado (Eckstein y Spira, 1965), la cual para *O. aureus* es de 18-22 mm; a pesar de que el tamaño es un conveniente indicador de la edad, la tasa de crecimiento se incrementa con la temperatura, de manera que el alevín alcanzará un tamaño en particular a una edad más temprana. La duración del tratamiento es una consideración importante cuando se consideran diferentes temperaturas o si el tratamiento es iniciado con alevines mayores a 11 mm, puesto que, la edad a la cual los alevines alcanzan esa longitud es afectada por la temperatura. Jensen (1976), registró a una temperatura de 25 °C las longitudes de los alevines, observando que para el momento de la eclosión, aún en la boca de la madre tenían una longitud de 5.0 mm, para el momento que empezaron a alimentarse midieron 6.5 mm y cerca de los siete días llegaron a 7.0 mm, presentando sólo remanentes del saco vitelino. McBay, citado en Guerrero (1975), reportó que los alevines alcanzan los 9 mm a los ocho días después de la eclosión, de aquí que, cuando se comienza el tratamiento de los alevines a los 9-11 mm, ya tendrán 2 semanas de edad. El período de diferenciación gonadal está probablemente influenciado por otros factores además del tiempo; entre ellos está la tasa metabólica, la cual en los peces está en función de la temperatura.

De acuerdo a Alveñía-Casauay y Cariño (1988), en los alevines recién salidos del huevo (5-6 mm) las células primordiales se encontraron concentradas a lo largo de la región dorsomedial de la pared del peritoneo, en la base del desarrollo del mesenterio dorsal. Estas se distinguen de las células ordinarias del mesenterio, por su contorno definitivamente redondeado. Algunas otras células fueron encontradas en lugares más lejanos de la región presumiblemente gonadal. Observaciones similares fueron hechas en alevines de 6-7 mm a los 3 días de la eclosión, sin embargo las células se habían trasladado gradualmente hacia la región de las gónadas. Un par de gónadas fueron observadas a los 9-10 días de la eclosión y teniendo los alevines 9 mm de longitud. Después de 10 días de la eclosión se incrementó el número de células germinales, las cuales llevaron a un ligero alargamiento de las gónadas. Las células somáticas de las gónadas también se incrementaron ligeramente en número. La diferenciación sexual en *O. niloticus* tomó

lugar a los 30-33 días después de la eclosión cuando la longitud del cuerpo era de 9-12 mm. Clemens y Inslee (1968), señalaron que la diferenciación gonadal toma lugar entre los días 35 a 48 después de la eclosión (Nakamura y Takahashi, citados por Alvendia-Casauay y Cariño, 1988), reportaron que para que se llevara a cabo completamente la reversión sexual los alevines deberían sujetarse al tratamiento hormonal entre los días 7 y 25 después de la eclosión (Tabla 3).

Pandian y Varadaraj (1988), señalan a su vez una duración mas reducida del tratamiento de solo 11 días como mínimo, iniciando a los 10 días de la eclosión. En Q. mossambicus sin embargo, la diferenciación sexual se llevó a cabo entre los 16-20 días, cuando la longitud del cuerpo alcanzó un promedio de 8 a 11 mm. La espermatogénesis ocurre en los alevines a los tres meses de la eclosión, observándose ya las espermatogonias, los espermatoцитos y los espermatozoides. Los ovarios en hembras de ésta edad mostraron ovocitos grandes de 45 a 80  $\mu$ m de diámetro. La ovogénesis se inició antes que la espermatogénesis.

En cuanto a la duración del tratamiento se reporta en dos meses el tiempo aproximado para Q. mossambicus con 30 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta (Clemens y Inslee, 1968) y para Q. niloticus (Jalabert et al., citados en Shelton et al., 1978). Tres semanas es adecuado para Q. aureus con MT y ET a 60 mg/kg de alimento en la dieta (Guerrero, 1975), todos ellos a 21-23 °C. Tayamen (1977), aplicó la reversión sexual en Q. niloticus con un tratamiento de andrógenos de tres semanas de duración a 21-23 °C, obteniendo 98-100% de machos.

Guerrero, citado en Shelton (1978), lo aplicó con éxito en Q. mossambicus en un periodo de seis semanas con andrógenos. Shelton et al. (1978), lo aplicaron para Q. niloticus durante cuatro semanas obteniendo 100% de machos de una longitud de 15 a 33 mm (24 mm en promedio) a 21-23 °C. A una temperatura mayor (25-27 °C), obtuvo alevines de 22 mm en sólo tres semanas, pero con sólo un 98-100% de machos. A una temperatura aún mayor (27-29 °C) obtuvo alevines de Q. aureus en un rango de 15 a 36 mm (30 mm de promedio) en tres semanas, pero con sólo 97% de machos. En sólo dos semanas a esa temperatura obtuvo alevines de 22 mm en promedio (14-31 mm) pero con sólo un 88% de machos. De lo que dedujo que el crecimiento de Q. niloticus es más lento que el de Q. aureus a los 27-29 °C, pero no a los 21-23 °C, donde Q. niloticus creció mas rápidamente.

En un experimento similar con O. niloticus la cual tiene un crecimiento ligeramente menor, sólo se dio un 82% de machos, de donde vemos que, además de que el tamaño obtenido durante el tratamiento es un buen criterio para predecir el éxito; la duración y la edad a la que se empiece, cobran una vital importancia (Figs. 2a y 2b). Intentos de tratamientos a los 19-20 °C han producido una mortalidad muy alta, de ahí que la mínima sea de 21 °C.

En los rangos de temperatura de 21-23 °C, un tratamiento de 3 a 4 semanas ha producido poblaciones compuestas de machos en porcentajes altos (98-100%). Tratamientos de más corta duración han sido inefectivos. Si se toma como referencia una longitud promedio de 9-11 mm para iniciar el tratamiento, parece que con 3 a 4 semanas de tratamiento a una temperatura no menor a 21 °C se esperaría un rendimiento de machos de más del 90%.

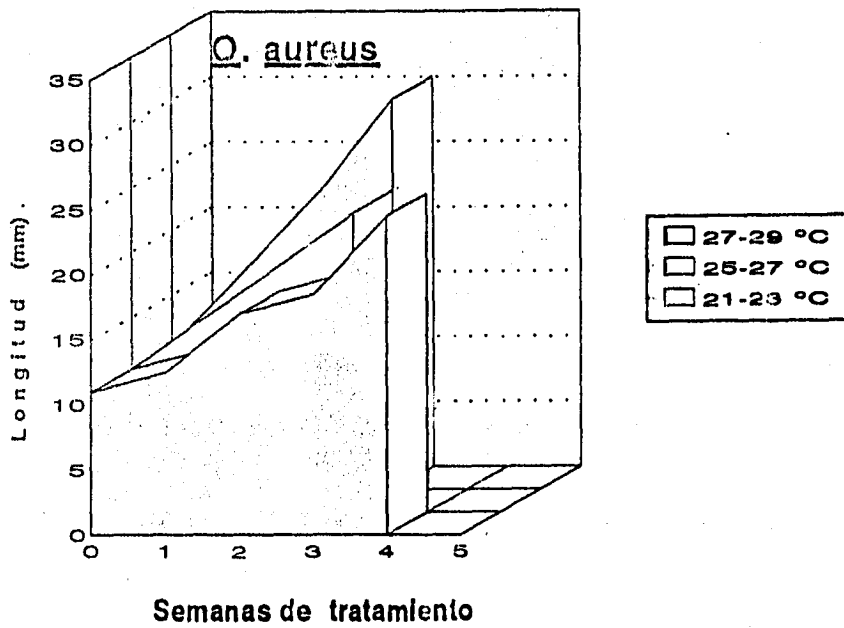
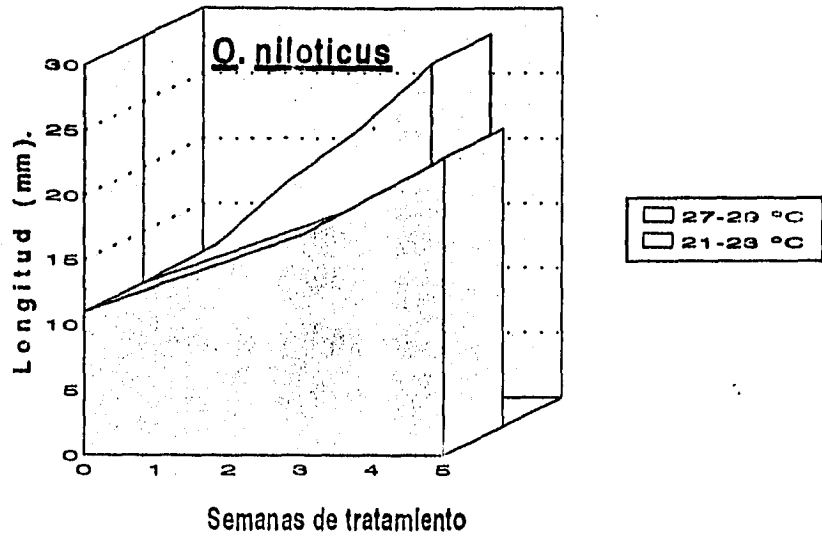
Al variarse la duración del tratamiento con ET y MT, se observó que el tratamiento deberá comenzar cuando los alevines tengan 11 mm o menos de longitud total (a 25-27 °C) y deberá continuarse hasta que alcancen los 19 mm (con ET) o 22 mm (con MT) para lograr el 100% de machos.

## **2.6 Densidad de confinamiento de los alevines y la relación con su crecimiento.**

Han sido utilizadas diferentes densidades para confinar a los alevines: Uchida y King (1965), emplearon una densidad de 160 alevines/m<sup>2</sup> en O. mossambicus encontrando una tasa de crecimiento significativamente mayor en los tanques menos poblados.

Los alevines recién liberados de la boca de la madre casi siempre se localizan nadando y se capturan cerca de la superficie del agua y al transferirse a otros estanques continúan exhibiendo este comportamiento por lo que Uchida y King (1962), sugieren que la densidad de confinamiento está más relacionada con la superficie del área (m<sup>2</sup>) que con el volumen del agua (m<sup>3</sup>).

Figs. 2a y 2b Crecimiento en *Q. niloticus* y *Q. aureus* tratadas con ET 30/60 a varios rangos de temperatura (Shelton et al., 1978).





Guerrero (1975), también utilizó inicialmente esa cantidad. Shelton *et al.* (1978) en tratamiento de alevines de *O. aureus* utilizaron densidades de 160, 325, 650, 1300 y 2600 alevines/m<sup>3</sup> obteniendo porcentajes de machos del 98 al 100%. Fig. 3.

De los casos anteriormente citados, los crecimientos no sobrepasaron los 4 cm al final de 4 semanas de tratamiento observando que cuando existían mayores densidades el crecimiento promedio era menor, no sobrepasando los 2.5 cm (Shelton *et al.*, 1978). Investigadores en Israel (Rothbard, Buddle, citados por Shelton (1978), utilizaron densidades altas de 8,000 a 17,000 org/m<sup>3</sup> con el fin de obtener alevines en forma masiva, logrando un porcentaje de 98-100% de machos con una talla promedio de 2.5 cm al término de cuatro semanas de tratamiento. Guerrero (1975), utilizó densidades de 150 a 750 alevines/m<sup>2</sup> obteniendo 90-100% de machos con un promedio de 1.8 cm a las tres semanas y de 2.3 cm a las cuatro semanas.

Con respecto a las diferencias de crecimiento entre los alevines tratados y los no tratados, las investigaciones de Guerrero, Kata *et al.*, Owusu-Frimpong y Nijjar, (citados por Shelton *et al.*, 1978), han establecido que se aprecia un incremento en el tamaño final de los alevines tratados, en comparación con el menor tamaño de las hembras en el grupo control (Hanson *et al.*, Muhaya, citados por Shelton *et al.*, 1978).

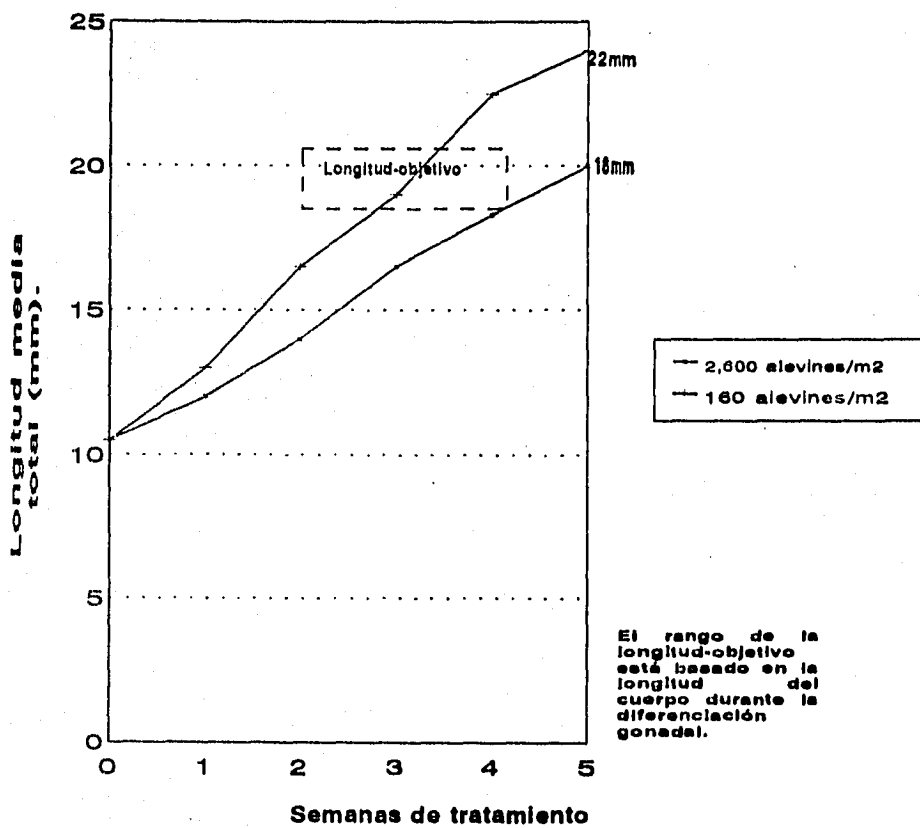
La superioridad del crecimiento del macho tiene una base genética en Cíclidos y no es solamente una función del proceso reproductivo (Fryer y Iles, citados en Shelton *et al.*, 1978). Los machos crecen más que las hembras en muchas especies de tilapias, aún y cuando la reproducción sea prevenida. Esto sugiere que la tasa de crecimiento diferencial tiene una base genética (Guerrero, Stone, Pagan, Brown, Behrends, McGinty y Micha, citados en Tave, 1988).

La suplementación de la dieta con esteroides ha mostrado acelerar el crecimiento en peces (Pandian, Shindhu y Pandian, citados en Varadaraj, 1988). Esta suplementación actúa estimulando el apetito y/o las propiedades anabólicas (Arul, citado en Varadaraj y Pandian, 1988) afectando también el sexo de los alevines indiferenciados.

Tratamientos con MT a dosis bajas y corta duración (5 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta y 11 días) incrementan significativamente el consumo de alimentos, actuando como un estimulante del apetito. Cuando la hormona MT es administrada en un tratamiento de larga duración induce una mayor respuesta anabólica de la eficiencia del crecimiento. De aquí que si se prolonga el tratamiento diario con MT-5 por 16

días no sólo se asegurará la reversión al 100% de las hembras genéticas, sino que también se incrementará la eficiencia del crecimiento hasta 1.5 veces (Pandian y Varadaraj, 1988).

**Fig. 3 Tasa de crecimiento de *O. aureus* bajo tratamiento para reversión sexual a dos densidades (160 y 2,600 alevines/m<sup>2</sup>) y en un rango de 22 a 24 °C). (Eckstein y Spira, citados en Shelton et al., 1978).**



### III. OBJETIVOS.

- 1.- Demostrar la factibilidad de la técnica de reversión sexual para la obtención de alevines machos de O. urolepis hornorum mediante la utilización de la hormona sintética 17- $\alpha$ -metiltestosterona (MT) y determinar las condiciones en que se produce.
- 2.- Lograr una mayor eficiencia del cultivo comercial intensivo y semi-intensivo de Oreochromis urolepis hornorum mediante el empleo unicamente de alevines machos.
- 3.- Realizar un uso eficiente de las instalaciones de cultivo, obteniendo el mayor número de alevines tratados por m<sup>2</sup> y un porcentaje de 100% de machos.

## IV. MATERIALES Y MÉTODO.

### 4.1 Obtención de los alevines.

A partir del 5 de abril de 1991 se prepararon dos estanques de mampostería de 300 m<sup>2</sup> cada uno en el Centro Acuícola Los Amates en Tlacotalpan Veracruz para el cultivo y obtención de alevines de Oreochromis urolepis hornorum.

Para la prevención de enfermedades se drenaron y secaron totalmente (Fotografía 1) dejándolos asolear durante dos semanas. Para destruir los organismos patógenos o sus formas intermedias que pudieran existir se encalaron en una proporción de 50 g/m<sup>2</sup>, regando la cal directamente y cubriendo la superficie total de los estanques (Fotografía 2).

Se dejaron encalados durante dos días, después de los cuales se empezó a llenar con agua limpia, libre de sedimentos y filtrada con una malla de mosquitero, se llenó hasta una profundidad de 0.70 m (Fotografía 3) agregándoseles un litro de gasolina-diesel en proporción de 50-50% a partir del quinto día.

Se roció de tal manera que se formara una capa superficial (Fotografía 4), esto con el fin de eliminar insectos acuáticos, principalmente Notonecta glauca (Fotografías 5 y 6) depredador furtivo de alevines, al que durante un tiempo no había sido posible eliminar.

Esta capa de diesel desaparece el mismo día por evaporación, con buen sol, volviéndose a agregar la misma cantidad al octavo día después de introducir los reproductores, no causando daño alguno ni a éstos, ni a los alevines (Cabañas L., com. pers.).

Los reproductores se seleccionaron de acuerdo a las características fenotípicas y merísticas de la especie:

Oreochromis urolepis hornorum. Su coloración va de verde olivo oscuro a negro, con el margen de la aleta

dorsal y superior de la aleta caudal rojo. La forma del cuerpo tiende a la uniformidad, con un lomo y porción caudal altos y una boca con labios carnosos.

Además deberán presentar:

- 1.- Espina dorsal recta.
- 2.- Coloración brillante de un negro intenso y sin manchas claras.
- 3.- Ninguna malformación .
- 4.- Mayor talla en el lote de crecimiento.
- 5.- Resistencia a las enfermedades (animales activos).
- 6.- Pedúnculo caudal corto y cabeza pequeña .

La coloración en época de reproducción se acentúa más sobre todo en los machos, ya que por lo general, son más vistosos que las hembras. Cuando empieza la época de reproducción se observan con mayor facilidad los rasgos característicos para la determinación del sexo; observando la papila urogenital, ya que en las hembras se presenta una hinchazón, además de una ligera coloración rojiza.

También se puede observar la madurez con una simple pulsión ventral, la hembra puede soltar al exterior de la papila uno o varios huevecillos, lo que nos indica que el proceso de maduración se ha completado. En otros casos, en época de reproducción al contrario del macho, las hembras pueden perder coloración.

La talla de las hembras es un factor importante, ya que la producción teórica está basada en la fecundidad y conteo de huevos y alevines propuesta por Lowe, 1955 y McBay, 1961, citados en Guerrero (1975), donde establecen que existe una relación directa entre la producción de alevines y la longitud del cuerpo de la hembra, siendo el cuadrado de la longitud standard el número aproximado de huevos que una hembra puede incubar (Welcomme, 1967).

De los estanques de reproducción del centro se seleccionaron y separaron en corrales a 650 reproductores (400 hembras de 230 g y 22.5 cm en promedio y 250 machos de 300 g y 24 cm en promedio) para posteriormente introducirlos el día 8 de mayo (Fotografía 7).

Fueron introducidos 325 reproductores en cada estanque con una proporción de sexos de 200 hembras y 125 machos, se aseguró que las hembras no hubieran desovado de 3 a 4 semanas antes, asimismo al introducir las en los estanques cada hembra era revisada confirmando que no tuviera huevos en la boca y de ésta manera evitar una posible producción de alevines antes de lo esperado.

De acuerdo a los promedios obtenidos de peso y longitud standard se seleccionaron los ejemplares que presentaron un alto factor de condición. (Tabla 4).

A fin de garantizar una producción de alevines en grandes cantidades en los dos estanques, el sistema de reproducción tradicional que se había implantado en años anteriores en el Centro Acuícola "Los Amates" y que consistía en reproductores libres en los estanques con ciclos de desove de 45 días y cosechas parciales de alevines fue modificado a ciclos más cortos de 10 a 13 días, de acuerdo a la técnica empleada en la granja acuícola de Gam-Shamuel en Israel.

Este método de cultivo modificado por Rothbard *et al.* (1983) (Tabla 5), permite la producción masiva de alevines, debido a la influencia positiva de la temperatura y a que se observa que al décimo día de haber introducido a los reproductores, los alevines ya nadan libremente formando grupos compactos, congregándose a lo largo de las orillas sombreadas del estanque.

Se capturaron a partir de ese día y los dos siguientes por medio de una red de mosquitero de 3 m de largo X 1.20 m de ancho operada por dos piscicultores desde adentro del estanque.

En este periodo más corto de trece días se cosecharon totalmente tanto reproductores como alevines, con el propósito de obtener alevines de solo 1 o 2 días de diferencia y por lo tanto de una talla similar.

En los días 17 y 18 de mayo se cosecharon alevines de un solo tamaño con una longitud de  $10 \pm 1$  mm y de un peso de  $20 \pm 0.5$  mg, obteniéndose los necesarios calculados para el tratamiento.

Se decidió cosechar por las mañanas, preferentemente de las 08:00 a las 09:30 ya que en esas horas la temperatura de  $24 \pm 0.5$  °C del agua del estanque alcanzaba la misma temperatura del agua que se bombeaba del pozo a las tinas de tratamiento, evitando con ésto que durante el conteo se presentaran cambios bruscos de temperatura.

Para la cuantificación de los alevines se aplicó el método de conteo volumétrico, realizándose el conteo de los organismos que contenía un recipiente de medidas conocidas, en este caso de una capacidad ya probada de 500 alevines. Con una cucharilla de malla fina que permitía escurrir el agua, una sola persona tomó y contó 5 muestras, sacando el promedio para calcular el error teórico de muestreo, manteniéndolo por abajo del 10% (Vázquez y Sánchez, 1988). Este procedimiento se efectuó en dos corrales de tela mosquitero de 1 m X 1 m colocados dentro de las tinas de tratamiento

#### **4.2 Confinamiento de los alevines y tinas de tratamiento.**

Se trasladaron al almacén bajo techo (Fotografía 8) por medio de cubetas de plástico con agua limpia. Se distribuyeron al azar en las tinas de tratamiento y se calculó que teniendo éstas una capacidad de 1,130 l correspondería una introducción de alevines tal y como se observa en la Tabla 6.

Se utilizaron las tinas de fibra de vidrio disponibles en el Centro Acuicola de Los Amates Veracruz, las cuales cuentan con las características de un tanque ideal, entre éstas se pueden mencionar:

- 1.- Con un terminado fino interior, previniendo que el alevín se haga daño al rozar con sus paredes.
- 2.- Con un sistema de sifón al centro para su autolimpiado.
- 3.- Con la facilidad para cepillarse fácilmente y esterilizarse.

4.- La superficie interior no es tóxica para los alevines y no provee áreas para que se desarrollen los organismos productores de enfermedades.

5.- No se corroe.

Las ventajas de utilizar un tina (tanque) circular son:

1.- Las velocidades del agua son más altas que en los tanques rectangulares, el recambio de agua es total y a través de toda la columna, sin dejar espacios muertos, produciendo un mejor acondicionamiento para los alevines al trasladarlos a la naturaleza.

2.- La entrada de agua produce un componente de velocidad tangencial, lo que ocasiona la circulación en el tanque; la descarga se hace a través del centro del tanque por medio de un tubo vertical a través del drenaje del tanque.

3.- Los tanques circulares tienen una mayor distribución de comida que los canales de agua, tienen mayor facilidad para limpiarse y requieren de un flujo menor.

Para el tratamiento hormonal de los alevines se utilizaron 6 tinajas circulares de fibra de vidrio de 1.9 m de diámetro por 0.90 m de profundidad, con una capacidad de 1.130 l y un sistema de salida de agua y limpieza con sifón en el centro. Llenándose con agua de pozo a una temperatura de  $24 \pm 0.5$  °C hasta una profundidad de 0.40 m. Se proporcionó un recambio de agua de 0.8 l/min hasta el día 2 de junio (a la mitad del tratamiento), a partir del 3 de junio se aumentó a 1.6 l/min (el doble) (Fotografía 9). Como medida preventiva antibiótica se utilizó permanganato de potasio a una concentración semanal de 2 ppm. Este químico baja el oxígeno rápidamente por lo que fue necesario recambiar el agua.

Diariamente por la tarde se extraían, contaban y registraban los alevines muertos y se sifoneaba complementando la acción del sifón central (Fotografía 10) dejando limpias las tinajas de materia orgánica.



El agua de pozo era enviada por una bomba de ¼ h.p. a un depósito de 7 m<sup>3</sup> (7,000 l) en donde era aireada por un compresor de ¼ h.p., garantizándose una oxigenación de 5 mg/l. Esto se hizo así porque se observó que la oxigenación directa revuelve el alimento y perturba a los alevines.

Después por gravedad, se surtían las tinajas (Fotografía 11) donde la temperatura se mantenía a 24 °C, tal y como sale del pozo, sin que le afectara la temperatura ambiente. Siendo agua blanda su alcalinidad se presentó de 100 mg/l, dentro de los rangos; con una dureza muy baja, 135 mg/l, transparente y clara con un pH de 7. El fondo y las paredes de las tinajas se cepillaron semanalmente (Fotografía 12) para evitar el desarrollo de algas, las cuales podrían ser usadas como alimento en lugar del alimento con andrógeno.

#### 4.3 Preparación del alimento y alimentación de los alevines.

Para preparar el alimento se utilizó el método descrito por Guerrero (1975) y Shelton *et al.* (1978), utilizándose el andrógeno sintético 17- $\alpha$ -metiltestosterona de Laboratorios Syntex, S.A. Div. Química (Apendice). Añadiendo componentes para aumentar la palatabilidad, el valor nutritivo y antibióticos, para reducir la mortalidad por enfermedades (Jensen. 1976).

La solubilidad debe considerarse en la preparación del alimento ya que la MT es fácilmente soluble en etanol (Guerrero. 1975) mientras que la ET requiere de la utilización de eter, dejándose evaporar para disolverse completamente a temperatura normal (Shelton *et al.*, 1978).

Dietéticamente la proteína es considerada siempre de primera importancia en la alimentación de los peces, ya que sus requerimientos protéicos son altos. La proteína es el nutriente básico de la alimentación para el crecimiento del animal y un constituyente muscular, además de constituir anatómicamente el mayor componente del cuerpo del pez. El nivel óptimo de proteína en la dieta, en términos de crecimiento no es necesariamente el óptimo en términos económicos. El nivel de proteína que produce máximo crecimiento en tilapias, disminuye con la edad. No hay requerimientos actuales para carbohidratos ya que los peces son capaces de sintetizar carbohidratos de la fuente de lípidos y proteínas de la dieta, sin embargo, son incluidos

en la alimentación como una fuente de energía, de agente de relleno y como ligador. Un gramo de lípidos contiene dos veces la energía total de un gramo de carbohidratos y dos veces la de un gramo de proteína (Morales *et al.*, 1988)

El método que se utilizó para preparar semanalmente 1 kg de alimento (Fotografía 13) fue el siguiente:

- 1.- Se pesan 60 mg de hormona en la balanza analítica.
- 2.- Se disuelve en 750 ml de ethanol al 95%.
- 3.- Este alcohol que contiene la hormona se mezcla con 1 kg de alimento balanceado para crías de trucha (Purina), con un contenido de 35% de proteína, 25% de carbohidratos, 10% de grasa y 4% de fibra, se tamiza finamente y se pasa a través de una malla de tul.
- 4.- El alimento se complementa con 1 g de tetraciclina, 30 g de aceite de hígado de tiburón, 5 g de una premezcla de vitaminas, minerales y 0.5 g de vitamina C.
- 5.- Se seca el alimento en el horno a 40 °C durante una hora.
- 6.- Se guarda el alimento en bolsas de plástico y en el refrigerador.

Tomando como referencia la longitud promedio de los alevines introducidos (10 mm) se ajustó la dieta para proporcionar la alimentación diaria a un 20% de la biomasa de cada tanque de acuerdo a la técnica aplicada por Rothbard *et al.* (1983), distribuyéndose alimento con hormona a las tinajas de tratamiento: 4, 5 y 6 y alimento sin hormona a las tinajas de los grupos control: 1, 2 y 3 (Tabla 7). El alimento se distribuyó en cuatro raciones diarias: a las 09:00, 12:00, 15:00 y 18:00 horas durante seis días a la semana, dejando el séptimo para hacer los muestreos.

Si la dosis entera llegara a ser suministrada en una sola ración, existiría la duda de que algunos peces coman demasiado y otros no y por lo tanto la fluctuación de la hormona hacia la sangre sería muy variada.

#### 4.4 Comprobación de la reversión sexual por medio del sexado manual.

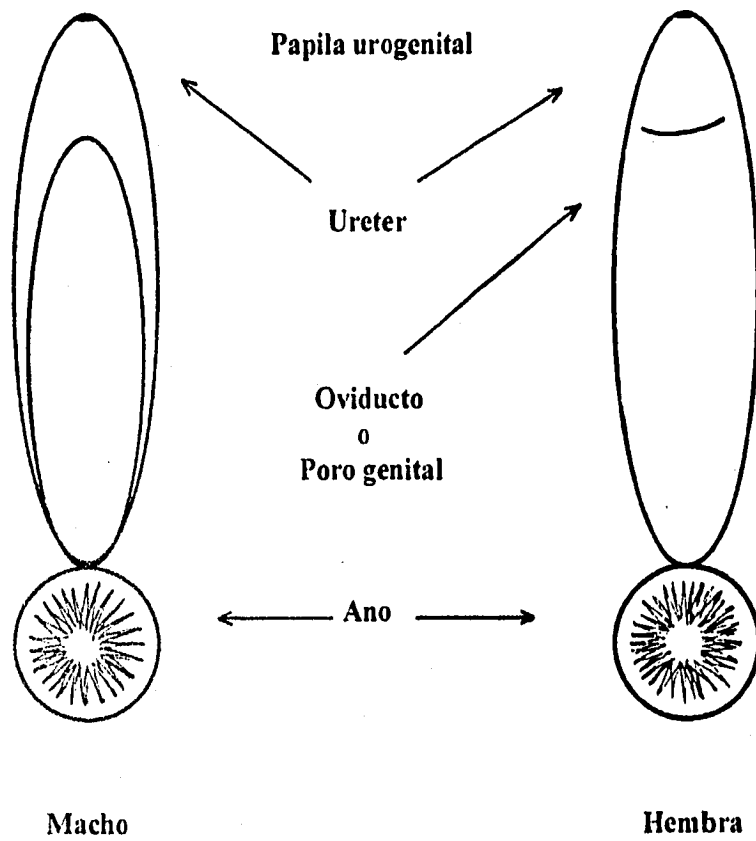
La comprobación de la reversión sexual por medio del sexado manual se basa en una revisión visual de la genitalia externa (gonoporo), por lo que se requiere que los organismos sean llevados a un crecimiento mayor, bien controlado, después de haber terminado el tratamiento hormonal.

El día 16 de junio se separaron al azar 75 alevines por tina, los que fueron sacrificados, tomándoseles longitud y peso para reportarse como crecimiento alcanzado al final del tratamiento.

Se colectaron al azar de cada tina 6 lotes de 1,000 alevines y se sembraron en los corrales preparados para tal fin en los estanques. Se les proporcionó una dieta con alimento balanceado con un 25% de proteína, dándoles dos veces al día durante 8 semanas, llevándolos al crecimiento hasta un tamaño adecuado para ser sexados (15 cm).

Las diferencias de la genitalia de machos y hembras son: El macho tiene dos orificios situados justamente adelante de la aleta anal; uno es el ano y el otro la abertura urogenital en el extremo o punta de la papila. La hembra tiene tres orificios: el ano; una abertura genital transversal separada y localizada en la pared frontal de la papila cerca del ápex y un orificio urinario microscópico difícilmente observable a simple vista (Fig. 4). Se utilizó un algodón empapado de azul de metileno para teñir y ayudar en la identificación visual. Este método tiene la desventaja de ser muy laborioso por lo que se requirió de la ayuda del Jefe del Centro Acuicola Biólogo Pascual Cabañas L., y de la invaluable cooperación de los experimentados trabajadores del mismo centro para realizar el reconocimiento de machos y hembras de los lotes llevados a crecimiento en los estanques. Se sexaron los alevines de los 6 lotes registrando el total de machos y hembras de cada uno.

Figura 4. Papila urogenital de Oreochromis spp.  
(Morales et al., 1988).



#### **4.5 Crecimiento de los alevines de O. u. hornorum . Tratamiento y análisis estadístico de los datos obtenidos.**

Con los datos de longitud y peso obtenidos en los muestreos semanales, se elaboró la tabla de crecimiento (Tabla 8), y por medio del programa HARVARD GRAPHICS 3.0 se realizó el análisis de correlación, obteniéndose las curvas de regresión lineal correspondientes a cada tina de tratamiento.

Se calculó para cada conjunto de datos su media, mediana y desviación típica, así como su coeficiente de correlación y el cuadrado del coeficiente de correlación, observándose que en todas las curvas de crecimiento el ajuste de los datos fué bueno. Se calcularon los coeficientes  $a$  y  $b$  para establecer las ecuaciones que representan la tasa de crecimiento de los alevines de cada tina de tratamiento bajo tratamiento hormonal y control.

Por medio del programa STATGRAPHICS 2.0 se procesaron los datos, asumiendo que ( $H_0$ ), la diferencia entre las medias es igual a 0. Utilizando el estadístico de prueba DMS (diferencia mínima significativa) y probando de acuerdo a la *t student*, se compararon los valores de longitud y peso independientemente para cada una de las densidades de confinamiento bajo tratamiento hormonal y control con un 95% de confianza.

## V. RESULTADOS.

El porcentaje de machos obtenidos en las tinas de tratamiento hormonal fue significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) del porcentaje de machos obtenidos en las tinas control, llegándose al 100% de alevines machos de *O. urolepis hornorum* en las tinas de tratamiento hormonal en comparación con los porcentajes (57%, 58% y 61%) de machos obtenidos en las tinas de los grupos control, en donde la proporción sexual macho-hembra se presentó muy cercana a la normal 1:1.1 (Tabla 9 y Fig. 5).

Se compararon los datos del porcentaje de machos obtenidos por medio del método de reversión sexual entre las tinas de tratamiento hormonal a diferentes densidades no encontrándose una diferencia significativa ( $P > 0.05$ ). Lo que permitiría utilizar la de mayor densidad para propósitos comerciales, tratando hormonalmente a un mayor número de alevines por m<sup>2</sup>.

Independientemente de las diferentes densidades empleadas, los alevines que fueron tratados con la hormona por el periodo de 28 días fueron todos machos. Los alevines de los grupos control presentaron una proporción sexual muy cercana a la normal (Tabla 10).

Se compararon los resultados del porcentaje de mortalidad en las tinas de tratamiento hormonal y en las tinas de los grupos control, acercándose al porcentaje esperado (5 al 10%) para las condiciones óptimas en que se dio el tratamiento. (Tabla 11 y Fig. 6).

El efecto de la administración de la 17- $\alpha$ -metiltestosterona a una dosis de 60 mg por kilogramo de alimento en la dieta, sobre la mortalidad de los alevines en las tinas de tratamiento hormonal no fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) en las tres densidades de confinamiento empleadas. Tampoco fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) entre los alevines de las tinas de tratamiento hormonal y las tinas de los alevines control (Tabla 12).

Fig. 5 Porcentaje de machos de *O. u. hornorum* obtenidos mediante el método de reversión sexual, durante 28 días y a diferentes densidades.

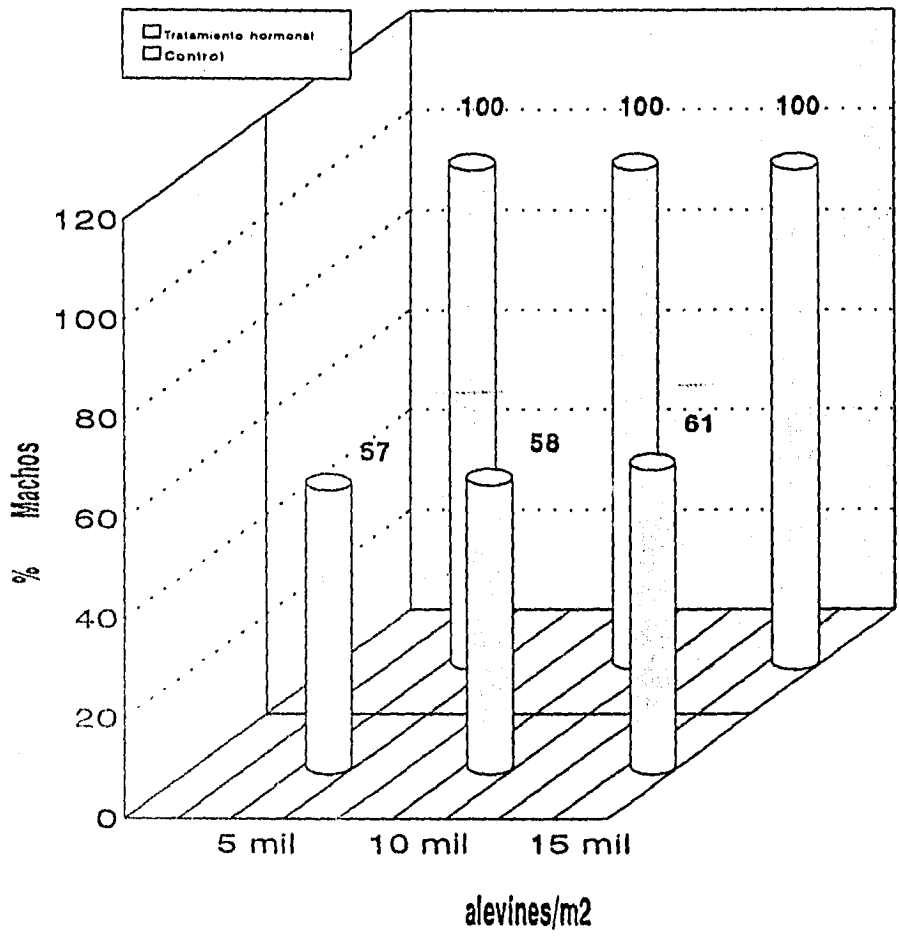
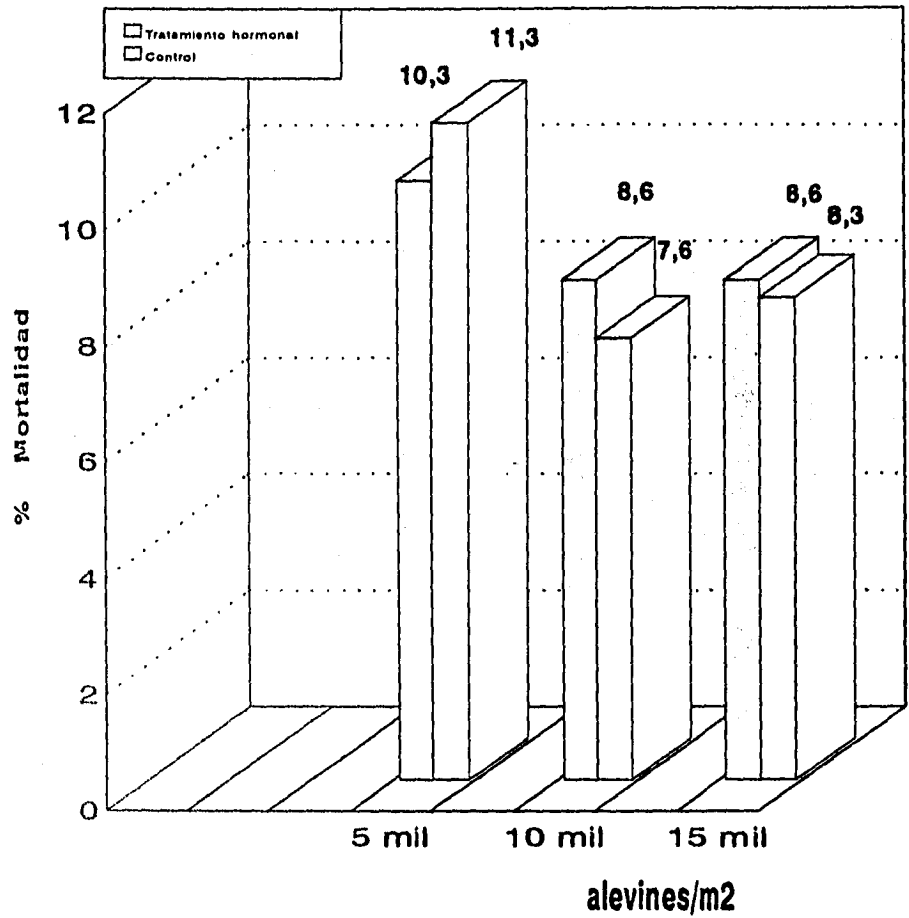


Fig. 6 Porcentaje de Mortalidad de los alevines de *O. u. hornorum* tratados con MT-60, durante 28 días y a diferentes densidades.





En lo que concierne al crecimiento de los alevines, al realizar la comparación y el análisis de las tasas de crecimiento se puede decir que en las tinas de tratamiento hormonal la utilización de la 17- $\alpha$ -meriltestosterona no dió como resultado algún efecto sobre la tasa de crecimiento de los alevines (Figs. 7, 8 y 9).

Se calculó el costo del tratamiento tomando en cuenta las cantidades utilizadas de alimento (kg) y hormona (mg) y su precio actualizado en el mercado.

Tratamiento hormonal (Tinas 4, 5 y 6).

	Cantidad	Precio	Total
Alimento utilizado durante 28 días .....	12 kg	NS 2.00 X kg	NS 24.00
Hormona agregada * .....	0.717 g	NS 6.00 X g	NS 4.30
			NS 28.30

\* La presentación de los Laboratorios Syntex, se distribuye en polvo en frascos de 30 g.

Peso inicial de los alevines ..... 0.678 kg  
 Peso final de los alevines ..... 6.967 kg  
 Aumento de peso en 28 días ..... 6.289 kg  
 Factor de conversión del alimento = 1.9

Los gastos que deben sumarse a este presupuesto son aquellos relacionados con la electricidad y trabajo técnico de mano de obra. Se calcularían aquí la utilización de un compresor de ¼ h.p. y una bomba de ¼ h.p. funcionando durante 8 horas al día/mes. así como el salario mínimo profesional de la zona de Alvarado, Veracruz para 2 trabajadores técnicos.

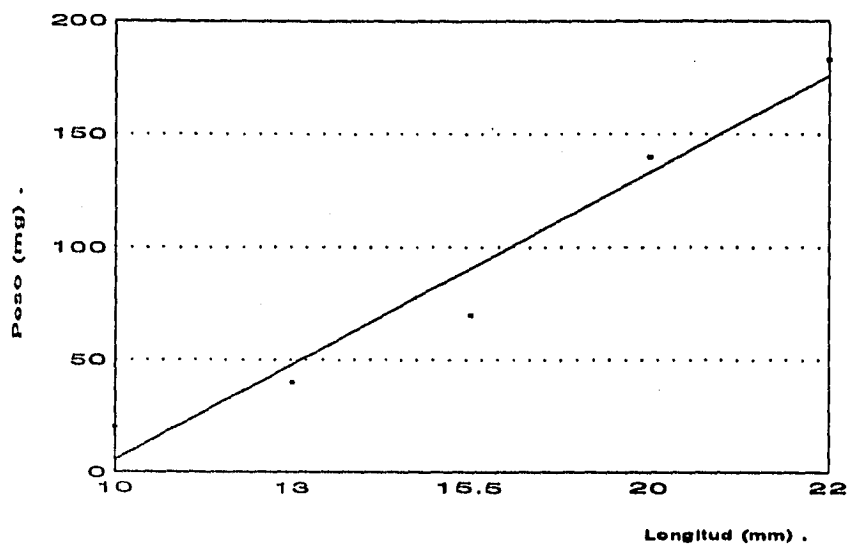
**GASTOS DE ELECTRICIDAD**  
(8 horas diarias durante 28 días)

	Cantidad	Día	Mes
Bomba de ¼ h.p. (con automático)	(1)	N\$ 2.00	N\$ 56.00
Compresora de ¼ h.p	(1)	N\$ 6.00	N\$168.00

**MANO DE OBRA**

Trabajadores técnicos (Salario mínimo profesional zona de Aharado, Veracruz)	(2)	N\$124.00	N\$3,472.00
	Total	N\$132.00	N\$3,696.00

Fig. 7 Comparación de las tasas de crecimiento a una densidad de 5 mil alevines/m<sup>2</sup>.  
a) Control



b) Tratamiento hormonal

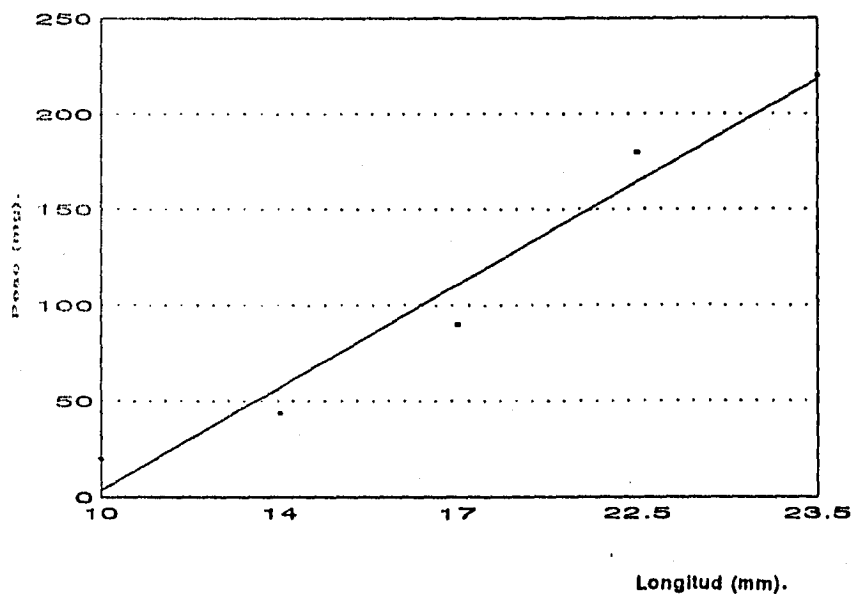
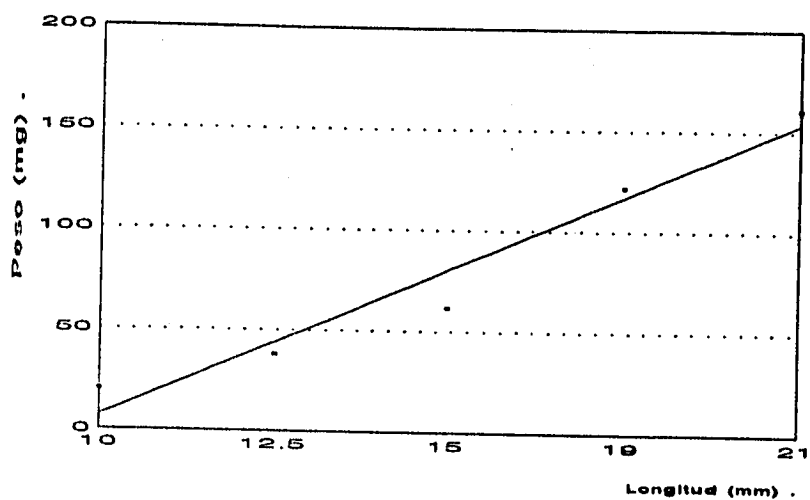


Fig. 8 Comparación de las tasas de crecimiento a una densidad de 10 mil alevines/m<sup>2</sup>.  
a) Control.



b) Tratamiento hormonal

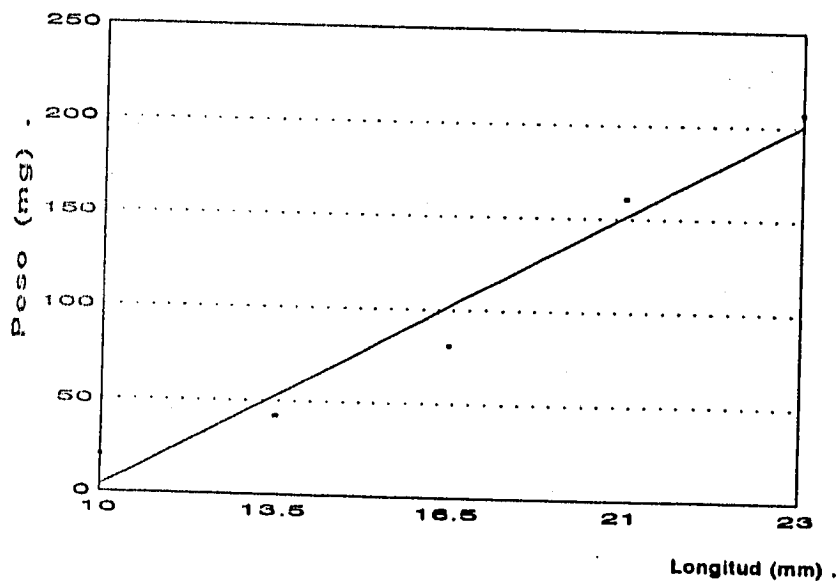
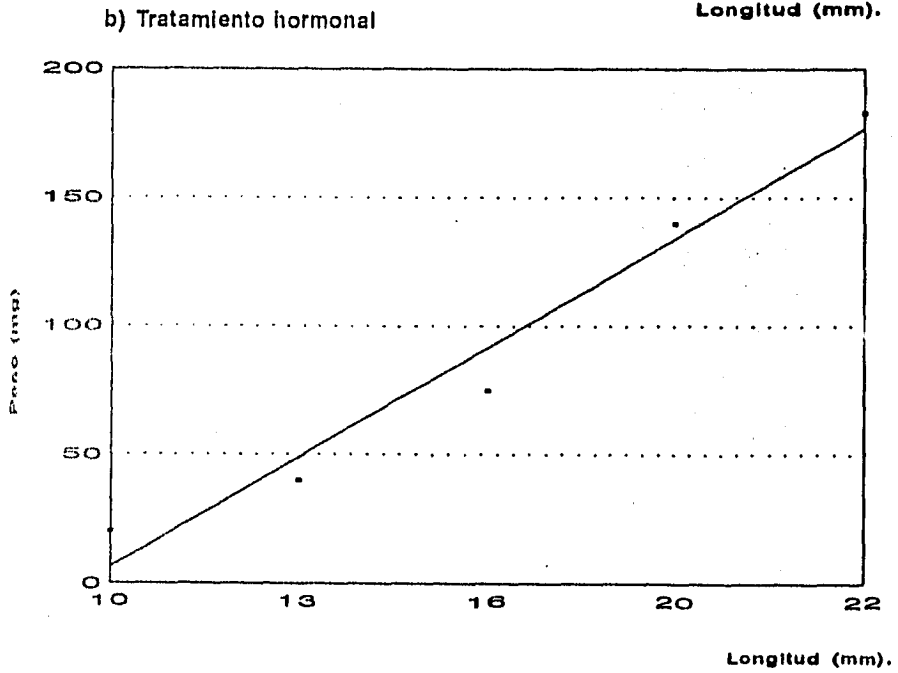
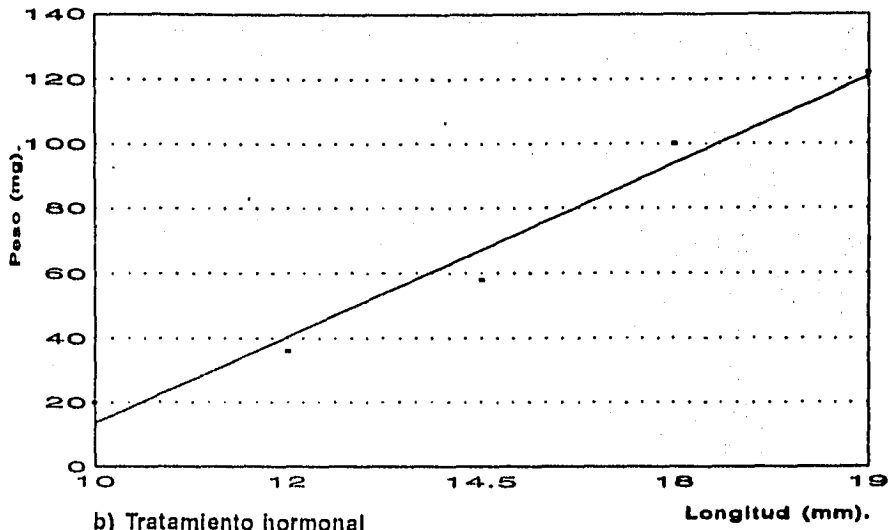


Fig. 9 Comparación de las tasas de crecimiento a una densidad de 15 mil alevines/m<sup>2</sup>.  
a) Control.



## VI. DISCUSIÓN.

La administración oral de diferentes concentraciones de 17- $\alpha$ -metiltestosterona (de 5 a 60 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta) ha inducido a las especies de Oreochromis a la reversión sexual, corroborando que la MT es un potente andrógeno. En general se han utilizado las concentraciones más altas a pesar de que, la MT es menos efectiva a concentraciones de 60 mg/kg que a 30 mg/kg en O. aureus (Guerrero, 1975), esto concuerda con los resultados de Clemens y Inslee (1968), quienes encontraron que las concentraciones de MT a 40 mg/kg y 50 mg/kg son menos efectivas que a 30 mg/kg en O. mossambicus aún así, las dosis de 45 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta han sido igualmente efectivas para lograr la completa reversión del sexo, a pesar de no alcanzar los porcentajes del 100% de machos (Vázquez *et al.*, 1988).

Datos de los experimentos realizados por Jo *et al.* (1988), sugieren que una dosis de 10 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta puede producir poblaciones monosexo proporcionándoles una ración alimenticia suficiente inclusive desde una semana después de la eclosión.

Se han reportado dosis con concentraciones tan bajas como 5 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta (Pandian y Varadaraj, 1988), aunque la tendencia en cultivos comerciales (Guerrero y Guerrero, 1988, Rothbard *et al.*, 1983) y su aplicación práctica, ha sido la de reducir las dosis altas (Obi, citado por Shelton *et al.*, 1978) y llevarlas a cifras cercanas a los 40 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta (Macintosh *et al.*, 1988), pero incrementando la ración alimenticia hasta un 30% o más, buscando cubrir totalmente los requerimientos de los alevines, Rodríguez y Guerrero (1979), encontraron que si la tasa de alimentación no satisface la demanda metabólica de los alevines, el alimento tratado con hormona no será efectivo para producir poblaciones monosexo.

La dosis promedio que ha probado consistentemente (Johnstone *et al.*, citados por Macintosh *et al.*, 1988) lograr el éxito en la reversión sexual en O. niloticus ha sido la de 40 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta.

Independientemente de los cambios en la ración alimenticia (30% al 10%), los alevines que ingirieron 5 mg de MT por kilogramo de alimento o más por un periodo de 19 días, fueron totalmente machos. La dosis mínima requerida para lograr el 100% de masculinización puede cambiar de 20 a 5 mg de MT, cuando la ración alimenticia se incrementa del 10% al 30%. La proporción sexual se incrementa en favor de los machos al incrementarse la dosis (Pandian y Varadaraj, 1988).

Debe hacerse notar que la concentración no viene a ser lo fundamental en la aplicación del método de reversión sexual (Macintosh *et al.*, 1988) sino la cantidad de hormona que ingieran los alevines, al establecerse una jerarquía en su alimentación (Pandian y Varadaraj, 1988).

Según Pandian y Varadaraj (1988), para aplicar el tratamiento sin desperdiciar hormona ésta deberá proporcionarse a partir del séptimo día después de la eclosión y nunca iniciar después del día doce, necesitándose como mínimo 19 días para que se logre la reversión sexual, incrementando la ración alimenticia hasta un 30%.

Los factores más importantes que influyen para determinar la duración del tratamiento, implicando con esto una reducción en sus costos, sin afectar la reversión sexual son la temperatura y la edad de los alevines al iniciar el tratamiento. Guerrero (1974), Shelton *et al.* (1978) y Rothbard *et al.* (1983), determinaron que la longitud óptima debe encontrarse entre los 9 y 11 mm y dentro de un rango de temperatura de 22 °C a 27 °C, lo que garantizará que los alevines se encuentren en la etapa de gónada indiferenciada.

En cuanto a la duración del tratamiento, se han empleado cuatro semanas para la producción comercial y masiva de poblaciones de alevines de Oreochromis todos machos en la Granja de Gam-Shmuel en Israel (Rothbard *et al.*, 1983), y en la producción de alevines revertidos de O. niloticus en Filipinas (Guerrero y Guerrero, 1988). Asimismo, Vázquez *et al.* (1988), en Cuba, han venido aplicando el método de reversión sexual en Oreochromis empleando cuatro semanas para su aplicación. Shelton *et al.* (1988), mencionan una temperatura de 23.5 °C durante 4 semanas para obtener un porcentaje de 100% de machos; en el presente trabajo con alevines de 10 ± 1 mm, la temperatura se mantuvo dentro del rango de 23.5 °C a 24.5 °C, logrando un porcentaje de 100% de machos durante 28 días.

De acuerdo con Guerrero (1975), los pesos promedios de los alevines tratados hormonalmente fueron generalmente más altos que los del grupo control. Una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre los pesos promedios de los alevines tratados y los controles indican que los tratados con MT tienen un mejor crecimiento que los controles. Las longitudes totales no difieren significativamente ( $P > 0.05$ ) entre los alevines tratados y los controles, indicando que la MT no afecta el crecimiento en etapas tempranas, durante las primeras tres semanas del tratamiento. La regresión lineal del peso total de los alevines contra el porcentaje de machos por tina de tratamiento indican una relación. Esto sugiere que un incremento en el peso total puede ser parcialmente atribuido al mayor crecimiento de los machos.

El tratamiento tradicional para la reversión sexual es el de 60 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta, éste produce un significativo incremento en peso, llegándose a un 13.2 % más que los grupos control (Jo *et al.*, 1988), resultados similares han encontrado Hanson *et al.* (citados por Jo *et al.*, 1988), señalando que en el grupo control los machos crecen un 13.9 % más que las hembras con una diferencia significativa.

Aún cuando se han reportado los efectos anabólicos de la hormona sobre los peces (Bulkely, 1972 y Poston, 1970, citados por Vázquez y Sánchez, 1988) no se apreció en este trabajo una diferencia significativa en el crecimiento, aunque se observa un ligera tendencia al aumento de peso de los alevines alimentados con hormona, así como un incremento en el consumo de alimento al final del tratamiento. Vázquez *et al.* (1988) encontraron que el efecto anabólico se expresa posteriormente a la etapa del tratamiento para reversión sexual, cuando los alevines son llevados a crecimiento. Rothbard *et al.* (1983), reportaron que tratamientos con 15 y 60 mg de MT por kilogramo de alimento en la dieta dieron como resultado que los alevines tratados hormonalmente crecieran más rápidamente que los grupo control, pero ninguna diferencia significativa se notó entre los dos grupos tratados hormonalmente. Posteriormente encontraron que los híbridos de Tilapia alimentados con  $17\text{-}\alpha\text{-etinitestosterona}$  después del tratamiento para reversión sexual crecieron significativamente más rápidamente que los controles revertidos sexualmente que no recibieron hormona.

Al llevar a cabo el análisis de los resultados de crecimiento se puede decir que en las tinas de tratamiento hormonal la dosis de MT-60 no dió como resultado algún efecto sobre la tasa de crecimiento, de lo que se



puede inferir que la dosis aplicada aún cuando es suficiente para inducir la reversión sexual, no se expresa con un efecto anabólico sobre la tasa de crecimiento. Asimismo las diferentes densidades de confinamiento no provocaron ningún efecto adverso sobre la tasa de crecimiento, sin embargo Shelton *et al.* (1981) y Rothbard *et al.* (1983) señalan que las densidades de confinamiento altas aplicadas durante el tratamiento en las tinajas contribuyen a inhibir la tasa de crecimiento de los alevines, pero no reducen el éxito de la reversión sexual.

La Mortalidad se mantuvo dentro de los límites reportados por las investigaciones consultadas, tomando en cuenta que se mantuvieron las condiciones físicas del agua y del ambiente en un nivel óptimo. Es de notar que a la menor densidad de confinamiento (5 mil alevines/m<sup>2</sup>), la mortalidad se incrementó en el mismo porcentaje tanto en el grupo tratado con hormona como en el grupo control (Fig. 9 y Tabla 11), esto quizá debido al manejo para tomar las muestras semanales, provocando con ésto un mayor "estress" dentro de la población.

## VII. CONCLUSIONES.

- 1.- Es posible lograr la reversión sexual con un porcentaje del 100% en alevines de O. urolepis hornorum utilizando la hormona sintética 17- $\alpha$ -metiltestosterona en dosis de 60 mg/kg de alimento en la dieta.
- 2.- La hormona no produjo efectos anabólicos significativos ( $P \geq 0.05$ ) en los alevines tratados.
- 3.- La densidad de confinamiento más alta, permitió la obtención del 100% de machos sin producir una mortalidad diferencial con las otras densidades de confinamiento empleadas.
- 4.- Con alevines de  $10 \pm 1$  mm a  $24 \pm 0.5$  °C son necesarias cuatro semanas de tratamiento para lograr el 100% de machos.

## VIII. LITERATURA CITADA.

- Alvencia-Casauay, A. and V.S. Cariño, 1988. Gonadal sex differentiation in Oreochromis niloticus p. 121-124. In R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (eds.) The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Anónimo. 1993. Anuarios Estadísticos de Pesca. SEPESCA.
- Aredondo, F., J.L. y M.A. Guzmán, 1985. Actual situación taxonómica de las especies de la tribu Tilapiini (pisces), introducidas en México. *An.Inst.Biol.Univ.Nal.Autón.Mex.* 56(1985), Ser. Zool. (2):555-572.
- Balarin, J.D. 1979. Tilapia. A guide to their biology and culture in Africa. University of Sterling, Scotland, United Kingdom. 174 pp.
- Bardach, J.E., J.H. Rythe and W.O. McLaren, 1972. Aquaculture. Wiley Interscience. New York. 866 pp.
- Buddle, C.R., 1984. Androgen-Induced Sex-Inversion of Oreochromis (Trewavas) hybrid fry stocked in to cages standing in an earthen pond. *Aquaculture* 40:233-239.
- Cabrera, J., J.A. y J.L. García C., 1982. Estado de la Acuicultura en México al término de 1982. Separata en: Bardach, J.E.; J.H. Rythe and W.O. McLaren, 1990. Acuicultura. Crianza y cultivo de organismos marinos y de agua dulce. 1ª reimpression.
- Chen, F.Y., 1969. Preliminary studies on the sex-determining mechanism of Tilapia mossambica Peters and Tilapia hornorum, Trewavas. *Verh.Int.Verein.Limnol.* 17:719-724.
- Cifuentes, L., J.L.; Torres-García, P. y Frías, M.M., 1990. El Océano y sus Recursos. Acuicultura. Fondo de Cultura Económica, S.A. de C.V. México. 161 pp.
- Clemens, H.P. and T. Inslee, 1968. The production of unisexual broods of Tilapia mossambica sex reversed with methyltestosterone. *Trans.Amer.Fish.Soc.* 97(1):18-21.
- Eckstein, B. and M. Spira, 1965. Effect of sex hormones on the gonadal differentiation in a cichlid Tilapia aurea. *Biol. Bull.* (129): 482-489.
- Faller, V. and L. Debacker, 1988. Density-Dependent Behavioral Shift in Oreochromis niloticus. Abstract p. 599. In R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (eds.) The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings. 15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- FAO, PNUMA, 1984. Conservación de los recursos genéticos de los peces: problemas y recomendaciones. Informe de la Consulta de Expertos sobre los recursos genéticos de los peces. FAO. Doc. Tec. Pesca (217):42.
- Fishelson, L., 1988. Behavior and gonadal structure of intergeneric Oreochromis Sarotherodon tilapia hybrids. p.159-167. In R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (eds.) The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM

- Conference Proceedings.15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Guerrero, R.D.III., 1974. The use of synthetic androgens for production of monosex male Tilapia aurea (Steindachner) Ph. D. Dissertation, Auburn, Univ. Alabama, U.S.A., 97 pp.
- Guerrero, R.D.III and W.L., Shelton, 1974. An aceto-carmin squash technique for sexing juvenile fishes. *Prog. Fish. Cult.* 36 (1) :56.
- Guerrero, R.D.III., 1975. Use of androgens for the production of all-male tilapia aurea (Steindachner). *Tran. Am. Fish. Soc.* 104:342-348.
- Guerrero, R.D.III and L.A. Guerrero, 1988. Feasibility of commercial production of sex-reversed Nile tilapia fingerlings in the Philippines. p. 183-186. *In* R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (eds.) The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings.15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Hopkings, K.D., Shelton, W.L. and C.R. Engle, 1979. Estrogen sex reversal of Tilapia aurea. *Aquaculture*, 18:263-268.
- Jensen, G.L.,1976. The effect of several naturally occurring estrogens on Sarotherodon aureus (Steindachner) and their potencial application to yield monosex genetic males. M. S. Thesis, Auburn, Univ. Alabama, U.S.A.129 pp.
- Jo, J.-Y, R.O. Smitherman and L.L. Behrends, 1988. Effects of dietary 17-alfa-methyltestosterone on sex reversal and growth of Oreochromis aureus. p. 203-207. *In* R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (eds.). The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Lovshin, L.L., 1982. Tilapia hybridization; *In* R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnell (eds.) The biology and culture of tilapias. ICLARM Conference Proceedings (7) 432:279-308.
- Macintosh, D.J., T.B., Singh, D.C. Little and P. Edwards, 1988. Growth and sexual development of 17-alfa-methyltestosterone and progesterone treated Nile tilapia (Oreochromis niloticus) reared in earthen ponds. p. 457-463. *In* R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (eds.). The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings.15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Martínez G., A., 1988. Diseños Experimentales. Métodos y elementos de teoría. Editorial Trillas. 756 p. México.
- Morales, D.A., A. Castañeda C., C. de la Paz O., H.H. Olmedo S., J.R. Galván V., J.M. Montoya M., M. Pérez-Galicia R., P. Cabañas L., 1988. Manual técnico para el cultivo de la tilapia en los centros acuícolas de la Secretaria de Pesca. Dir.Gral.de Comunicación Social de la SEPESCA, 202 pp.
- Nakamura, M. and H. Takahashi, 1973. Gonadal sex differentiation Tilapia mossambica. *Bull. Fac. With special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing feminization of genetic males. Fish. Hokkaido Univ.* 24(1):1-13.

- Pandian, T.J. and K. Varadaraj, 1988. Techniques for producing all male and all triploide Oreochromis mossambicus. p. 243-249 *In* R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and Mclean (eds.). The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings. 15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Rana, K.J., 1990. Influence of Incubation Temperature on Oreochromis niloticus. (L.) Eggs and Fry. I.- Gross Embryology, Temperature, Tolerance and Rate of Embryonic Development *Aquaculture*. 87:165-181.  
II.- Survival, Growth and Feeding of Fry Developing Solely on their Yolk Reserves. *Aquaculture*. 87:183-195.
- Rothbard, S., E. Solnik, S. Shabbath, R. Amado and I. Grable, 1983. The technology of mass production of hormonally sex-inversed all-male tilapias. p. 425-434 *In* L. Fishelson and Z. Yaron (comps.) Proceedings of the First International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Nazareth, Israel. Tel Aviv, Univ. p 8-13.
- Rothbard, S., Z. Yaron and B. Moav. 1988. Field experiments on growth enhancement of Tilapia (Oreochromis niloticus X O. aureus F1 hybrids) using pellets containing an androgen (17  $\alpha$  ethynyltestosterone), p.367-375. *In* R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (eds.). The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings. 15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Shelton, W.L., R.D. Guerrero III and J. Lopez M., 1981. Factors affecting androgen sex reversal of Tilapia aureus. *Aquaculture* 25:59-65.
- Shelton, W.L., K.D. Hopkins and G.L. Jensen, 1978. Use of hormones to produce monosex tilapia for aquaculture, *In* Smitherman R.O., Shelton W.L. and D.H. Grover (eds.), Culture of exotic fishes. Symposium Proceedings. Fish Culture Section. *Am. Fish. Soc. Auburn, Univ. Alabama, U.S.A.* p 10-33.
- Tave, D., 1988. Genetics and breeding of tilapia: a review. P. 285-293. *In* R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and Mclean (eds.). The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings. 15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Tayamen, M.M. and W.L. Shelton, 1978. Inducement of sex reversal in Sarotherodon niloticus (Linnaeus) . *Aquaculture* 14: 349-354 .
- Uchida, R.N. and J.E. King, 1962. Tank culture of tilapia. *U.S. Fish and Wild. Serv. Fish. Bull.* 62 (199):21-52.
- Uchida, R.N. and J.E. King, 1962. Rearing tilapia for tuna bait. *U. S. Fish and Wild Serv. Fish. Bull.* 62 (198):1-20.
- Vázquez, J. y T. Sánchez, 1988. Acerca del error de muestreo en el conteo de larvas y alevines de tilapia (O. aureus). *Bol. Acuic.* (7):21-24.
- Vázquez, J. y T. Sánchez, 1988. Reversión del sexo en larvas de Oreochromis aureus *Bol. Acuic.* (7):2-4.

- Vázquez, J., K. Fujals y T. Sánchez, 1988. Reversión del sexo en tilapia roja. *Bol. Acuic.* (7):24-29.
- Welcomme, R.L., 1967. The relationship between fecundity and fertility in the mouthbrooding cichlid fish Tilapia leucosita. *J. Zool.* (London) 151:453-468.
- Wheaton, F.W., 1982. Acuicultura. Diseño y construcción de sistemas. Ed. A.G.T. 1ª reimpresión en español. 704 p.
- Yamamoto, T., 1953. Artificially induced sex reversal in genotypic males of the medaka (Oryzias latipes) *J. Exp. Zool.* 123:571-594.
- Yamamoto, T., 1959. The effects of estrogen dosage level upon the percentage of sex-reversal in genetic males (XY) of the medaka (Oryzias latipes) *J. Exp. Zool.* 141:133-154.

## IX. LISTA DE FIGURAS.

	Descripción.	Página
Fig. 1	Producción nacional de tilapia.....	1.
Figs. 2a y 2b	Crecimiento en <i>O. niloticus</i> y <i>O. aureus</i> tratadas con ET 30/60 mg/kg de alimento en la dieta a varios rangos de temperatura.....	17
Fig. 3	Tasa de crecimiento a dos diferentes densidades de siembra en <i>O. aureus</i> .....	19
Fig. 4	Revisión visual de la papila genital.....	29
Fig. 5	Porcentaje de machos obtenidos mediante el método de reversión sexual.....	32
Fig. 6	Porcentaje de mortalidad.....	33
Fig. 7 a y b	Comparación de las tasas de crecimiento a una densidad de 5 mil alevines/m <sup>2</sup> .....	36
Fig. 8 a y b	Comparación de las tasas de crecimiento a una densidad de 10 mil alevines/m <sup>2</sup> .....	37
Fig. 9 a y b	Comparación de las tasas de crecimiento a una densidad de 15 mil alevines/m <sup>2</sup> .....	38

## X. LISTA DE TABLAS.

	Descripción.	Página
TABLA 1	Relación de las distintas especies de tilapia introducidas en México.....	51
TABLA 2	Revisión de las investigaciones realizadas sobre reversión sexual.....	52-54
TABLA 3	Diferenciación gonadal en <i>Oreochromis</i> spp.....	55
TABLA 4	Factor de condición de los reproductores.....	56
TABLA 5	Fases en el ciclo de reproducción.....	57
TABLA 6	Confinamiento de los alevines para la aplicación del método de reversión sexual.....	58
TABLA 7	Alimentación.....	59
TABLA 8	Crecimiento.....	60
TABLA 9	Comparación del porcentaje de machos obtenidos por el método de reversión sexual...	61
TABLA 10	Porcentaje de machos obtenidos a diferentes densidades de siembra.....	62
TABLA 11	Porcentaje de mortalidad.....	63
TABLA 12	Mortalidad.....	64



## XI. LISTA DE FOTOGRAFÍAS.

	Descripción.	Página
Fotografía 1	Drenado y secado de los estanques de mampostería.....	65
Fotografía 2	Encalado de los estanques.....	65
Fotografía 3	Llenado de los estanques.....	66
Fotografía 4	Eliminación de los insectos acuáticos.....	66
Fotografías 5 y 6	Insecto depredador furtivo de alevines <u>Notonecta glauca</u> .....	67
Fotografía 7	Selección y siembra de reproductores.....	68
Fotografía 8	Almacén del Centro Acuícola Los Amates, Veracruz.....	68
Fotografía 9	Tinas de tratamiento. Entrada de agua.....	69
Fotografía 10	Tinas de tratamiento. Salida de agua.....	69
Fotografía 11	Tinas de tratamiento. Ubicación.....	70
Fotografía 12	Tinas de tratamiento. Cepillado y limpieza semanal.....	70
Fotografía 13	Ingredientes para preparar el alimento con y sin hormona.....	71

## APÉNDICE.

A-1	Certificado de análisis de la hormona surtida por Syntex.
-----	---

**Tabla 1. Relación de las distintas especies de Tilapia, introducidas en México, arregladas de acuerdo con los criterios de Thys (1968) y Trewavas (1982 y 1983) (Arredondo y Guzmán, 1985).**

GENERO	SUBGENERO	NOMBRE CIENTIFICO	FECHA DE INTRDUCCION	LUGAR DE ORIGEN	LUGAR DE INTRODUCCION
1.- <u>Tilapia</u>	Coptodon (Gervais, 1983)	<u>Tilapia rendalli</u> (Boulenger, 1896)	1964	Alabama,	Temascal,
				E.E.U.U.	Oaxaca
2.- <u>Oreochromis</u> (Gunther, 1894)	Oreochromis (Gunther, 1894)	<u>Oreochromis urolepis</u> <u>homorum</u> (Trewavas, 1983)	1981	Florida,	El Rodeo,
				E.E.U.U.	Mor.
		<u>Oreochromis mossambicus</u> (Peters, 1852)	1964	Alabama,	Temascal,
			1981	E.E.U.U.	Oaxaca
		<u>Oreochromis aureus</u> (Steindachner, 1864)	1964	Alabama,	Temascal,
		E.E.U.U.	Oaxaca		
		<u>Oreochromis niloticus</u> (Linnaeus, 1757)	1978	Panamá,	Tezontepec,
				C.A.	Hgo.

Tabla 2. Revisión de las investigaciones realizadas sobre la reversión sexual en Oreochromis spp.

AUTOR/AÑO	ESPECIE	HORMONA	DOSES mg/kg	RACION ALIMENTICIA	TEMP. °C	DURACION (días)	EDAD/LONG./PESO INIC. TRAT.	LONG./PESO FINAL	DENSIDAD CONFINAMIENTO	% MACHOS
Yamamoto, 1953. 1959, 1969. Edstein y Spira, 1955.	<u>Oryzias latipes</u> (Medaka roja)	Estrógenos (feminizantes)	Estroina (E) 1,250 IU/g Ethinestrol (E) 5,000 IU/g			8 meses	Desde la edosión 4.5-5.4 mm	30-34 mm	Jarras de 10 l	100% HEMBRAS no intereso
Clemens y Inslee. 1968	<u>T. mossambicus</u>	MT	10-20 30 40-50	6% 6% 6%	19-21 19-21 19-21	69 69 69	15 mm 15 mm 15 mm	30 mm 30 mm 30 mm	2.5 y 10 org. por galón.	98-99% 100% 95%
Jalabert, 1974.	<u>T. niloticus</u>	MT	60		21-23	56				100%
Guerrero, 1974.	<u>T. aureus</u>	MT ET MT ET	60 60 30 30	8% 8% 8% 8%	25-27 25-27 21-23 21-23	18-21 18-21 18-21 18-21	9-11 mm 9-11 mm 9-11 mm 9-11 mm	22 cm 19 cm 19.7 cm 18.5 cm	160 org/m <sup>2</sup>	99% 100% 98.5% 100%
Guerrero, 1975.	<u>T. aureus</u>	ET MT	15-30-60 30-60	4% 4%	21 21	18 18	9-11 mm 9-11 mm	18 (21.9) 27 cm 18 (21.9) 27 cm	1 org/l 1 org/l	100% 100%
Sanico, 1975.	<u>T. aureus</u>	MT MT ET ET	30 60 30 60		21-23 21-23 21-23 21-23	21 21 21 21			150-750 org/l 150-750 org/l 150-750 org/l 150-750 org/l	90-100% 100% 90-100% 100%
Hoplings, 1977.	<u>T. aureus</u>	Estrógenos EE Y DES (Stat.) betaESTRAADIOL (natural)	25,25-100 120-200	10%	20-26 27-29	35 y 56	menor 12 mm		50-200/lote	Solo estrógenos sin éxito (60%) +(CA) y(ME) 90% antiestrogénos y bloqueadores.

Tabla 2. Continuación

AUTOR/AÑO	ESPECIE	HORMONA	DOSIS mg/kg	TASA DE ALIMENTACION	TEMP. °C	DURACION (días)	EDAD/LONG./PESO INIC. TRAT.	LONG./PESO FINAL	DENSIDAD	% MACHOS
Shelton, 1978	<u>T. aureus</u>	ET	60	10%	21-23	21	2 SEMANAS	16 (17-19) 21 cm	500 org/l	90-95%
	<u>T. nitobucus</u>	ET	*	10%	21-23	21	A 25-27°C	12 (16-17) 22 cm	650 *	98-10%
	<u>T. aureus</u>	ET	*	10%	21-23	28		15 (24) 33 cm	160 *	100%
	<u>T. nitobucus</u>	ET	*	10%	21-23	35			650 *	100%
	<u>T. aureus</u>	ET	60	10%	25-27	21		22 cm	150 *	98-100%
	<u>T. nitobucus</u>	ET	60	10%	27-29	21		15 (30) 36 cm	650 *	97%
	<u>T. aureus</u>	ET	*	10%	27-29	21			650 *	91%
	<u>T. nitobucus</u>	ET	*	10%	27-29	28			650 *	98%
	<u>T. aureus</u>	ET	*	10%	27-29	14		14 (22) 31 cm	650 *	88%
	<u>T. nitobucus</u>	ET	*	10%	27-29	14		13 (21) 30 cm	650 *	82%
<u>T. aureus</u>	ET	60	10%	19-20	28			650 *	50-60%	
Rothbard, 1983;	Híbridos	ET	60	12%	21-22.5	28	9-11 mm	0.21g/25 mm	0 y 17 ml/m3	98-100%
Shelton, Guerrero y López, 1981.	<u>O. aureus</u>	ET	60	12% al 15%	21-30	16-19	menor a 11 mm	20 mm	160 y 2,600/m2	90-95%
		ET	60	15%	21	21-28	menor a 11 mm		2,600/m2	100%
		ET	60	15%	30	21-28	menor a 11 mm		2,600/m2	95-98%
Pandhan y Varadaraj, 1988.	<u>O. mossambicus</u>	MT	5	30%		11, 14, 16 o 19				100%
			10	25%		no menos de 9				100%
			20	20%			6 a 9 días de la eclosión.			100%
			30	15%			no después del día 13.			100%
			40	10%						100%

Tabla 2. Continuación

AUTOR/AÑO	ESPECIE	HORMONA	DOSIS mg/kg	RACION ALIMENTICIA	TEMP. °C	DURACION (días)	EDAD/LONG/PESO INIC. TRAT.	LONG/PESO FINAL	DENSIDAD CONFINAMIENTO	% MACHOS
Macintosh, 1988.	<u>O. niloticus</u>	MT	60	10 y 20%	28-32	40	10 días o			92.8%
		MT	40	10 y 20%	28-32	40	menos			95.7%
		Progesterone	20	10 y 20%	28-32	40				72%
		s/ hormona	-	10 y 20%	28-32	40				52%
Jo, J-Smitherman y Behrends, 1988.	<u>O. aureus</u>	MT	10	Hasta saciarse		30	1 semana de la eclosión			100%
Vazquez y Sánchez 1988	<u>O. aureus</u>	MT	45	12%		35	menor de 11 mm	18-22 cm	160/m <sup>2</sup>	98.5%
		MT	60	12%		35	menor de 11 mm	18-22 cm	160/m <sup>2</sup>	98.5%
Guerrero y Guerrero, 1988.	<u>O. niloticus</u>	MT	30	20% 1a semana	22-34	21	9-11 mm		100/m <sup>2</sup>	99%
		(SRT-85)		15% 2a semana	.	21	.	500-750/m <sup>2</sup>		
		comercial		12% 3a semana	.	21	.			

Tabla 3 Diferenciación gonadal en *Oreochromis spp.*

*O. niloticus* ( Alvendia-casauay y Cariño, 1988 ).

*O. aureus* ( Eckstein y Spira, 1965 ).

*O. mossambicus* ( Nakamura y Takahashi, 1973 ).

DIFERENCIACIÓN GONADAL	LONG. (mm)	TEMP. (°C)	DÍAS ECLOSIÓN	ESPECIE
Las células germinales primordiales se encuentran concentradas a lo largo de la región dorsomedial de la pared del peritoneo, en la base del desarrollo del mesenterio central.	5-6	25	ECLOSIÓN	<i>O. niloticus</i>
El contorno definitivamente redondeado las distingue de las células ordinarias del mesenterio.		23		<i>O. mossambicus</i>
Algunas se encontraron en lugares más alejados de la presunta región gonadal.				
Las células se han trasladado gradualmente hacia la presunta región de las gónadas. Puede ser hipotetizado que las células se originan en el endodermo y pasan a través del mesodermo en su migración a la región gonadal.	6-7	26	1-3	<i>O. niloticus</i>
Se observan un par de gónadas ligadas por células peritoneales	9	26	9-10	<i>O. niloticus</i>
	8	23		<i>O. mossambicus</i>
Se incrementó el número de células germinales, llevando a un alargamiento de las gónadas. Se incrementó el número de células somáticas ligeramente. Todas sexualmente indiferenciadas.	9-11	26	10	<i>O. niloticus</i>
Presencia de células germinativas primordiales en el endodermo intestinal.		26	15-16	<i>O. niloticus</i>
Las células oogoniales se encuentran en la unión de la somatopleura y la esplacnopleura		25	16	<i>O. aureus</i>
Se lleva a cabo la diferenciación sexual. Las gónadas en estado de indiferenciación empiezan a definirse hacia femeninas o masculinas.	8-11	23	16-20	<i>O. mossambicus</i>
Las gónadas femeninas se desarrollan de 7 a 10 días antes que las masculinas.	22	25	16-20	<i>O. aureus</i>
		26	16-20	<i>O. niloticus</i>
Se llevó a cabo la diferenciación sexual		26	30-33	<i>O. niloticus</i>
		23	35-48	<i>O. mossambicus</i>
Se observa la diferenciación ovárica y testicular indicada por una cavidad lisa descansando a lo largo de la región lateral de la gónada y una serie de hendiduras que aparecen en el estroma en la región centro-lateral frente al mesogonio.		26	30-33	<i>O. niloticus</i>
Se distingue la cavidad ovárica y testicular.		26	48-49	<i>O. niloticus</i>
Ocurre la ovogénesis. Las células se alargaron tres veces su tamaño inicial.		26	56	<i>O. niloticus</i>
Los testículos permanecen quiescentes.		26	90	<i>O. niloticus</i>
Ocurre la espermatogénesis, se observan espermatogonias, espermatoцитos y espermatozoos.		26		<i>O. niloticus</i>

Tabla 4. Factor de condición de los reproductores de O. u. hornorum seleccionados para su cultivo (Morales et al., 1988).

	Peso promedio (g)	Longitud promedio (cm)	Factor de condición
MACHO	300	24,0	2,17
HEMBRA	230	22,5	2,01

**Tabla 5. Fases en el ciclo de reproducción de Oreochromis spp., de acuerdo a la técnica empleada en la granja Gam-Shmuel en Israel (Rothbard et al., 1983).**

Fases en el ciclo de reproducción	Duración (días)
1.- Aclimatación a un nuevo ambiente y ocupación de un nuevo territorio por los machos.	3-4
2.- Cortejo y desove.	1-2
3.- Incubación de los huevos en la boca de las hembras.	4-5
4.- Cuidado de los alevines por la madre.	3-4
5.- Alevines dependientes de la madre.	2-3
<b>Duración total</b>	<b>10-18</b>



Tabla 6. Confinamiento de los alevines de O. u. hornorum para tratamiento de reversión sexual a diferentes densidades de confinamiento.

Control No.	Tina de tratamiento No.	Densidad de confinamiento de alevines (No.org.)
1	4	5,650 ± 50
2	5	11,300 ± 50
3	6	16,950 ± 50

Tabla 7. Alimentación.

SEMANA No.	TRATAMIENTO (días)	ALIMENTO C/ HORMONA (g)	ALIMENTO S/HORMONA (g)	ALIMENTACION SEMANAL (g)	HORMONA (g)
1	1 AL 6	0,813	0,813	1,626	0,048
2	8 AL 13	1,681	1,518	3,199	0,100
3	15 AL 20	3,234	2,488	5,722	0,194
4	22 AL 27	6,250	4,637	10,888	0,375
TOTAL	28	11,979	9,456	21,436	0,717

**Tabla 8. Comparación del porcentaje de machos de *O. u. hornorum* obtenidos mediante el método de reversión sexual durante 28 días y a diferentes densidades de confinamiento.**

DENSIDAD DE CONFINAMIENTO (alevines/m <sup>2</sup> )	CONTROL % MACHOS	TRATAMIENTO HORMONAL % MACHOS
5 mil	57%	100%
10 mil	58%	100%
15 mil	61%	100%

Tabla 9. Porcentaje de machos de O. u. hornorum, obtenidos mediante el método de reversión sexual, durante 28 días y a diferentes densidades de confinamiento.

TINA DE TRATAMIENTO	DENSIDAD DE CONFINAMIENTO INICIAL (No.org.)	DENSIDAD FINAL (No.org.)	PORCENTAJE DE MACHOS
1 CONTROL	5,650	5,011	57%
2 CONTROL	11,300	10,435	58%
3 CONTROL	16,950	15,533	61%
4 c/ HORMONA	5,650	5,068	100%
5 c/ HORMONA	11,300	10,322	100%
6 c/ HORMONA	16,950	15,464	100%

**Tabla 10. Porcentaje de Mortalidad del método de reversión sexual aplicado a los alevines de *O. u. hornorum*.**

	Dosis mg/kg de MT	Numero de alevines Inicial	Numero de alevines Final	Mortalidad No. de alevines	Porcentaje de Mortalidad
CONTROL	0	33,900	30,979	2,921	8,6%
TRATAMIENTO HORMONAL	60	33,900	30,854	3,046	8,9%
TOTAL		67,800	61,833	5,967	8,8%

Tabla 11. Mortalidad de los alevines de O. u. hornorum bajo tratamiento hormonal para reversión sexual.

Tinas de Tratamiento	Dosis mg/kg de MT	No. alevines inicial	No. alevines final	Mortalidad por manejo	Mortalidad por muestreo	Mortalidad TOTAL	% MORTALIDAD
1	0	5,650	5,011	339	300	639	11,3%
2	0	11,300	10,435	565	300	865	7,6%
3	0	16,950	15,533	1017	300	1417	8,3%
4	60	5,650	5,068	282	300	528	10,3%
5	60	11,300	10,322	678	300	978	8,6%
6	60	16,950	15,464	1186	300	1486	8,6%
TOTAL		67,800	61,833	4,067	1,800	5,967	8,8%

Tabla 12. Crecimiento de los alevines de *O. u. hornorum* bajo tratamiento hormonal para reversión sexual, durante 28 días.

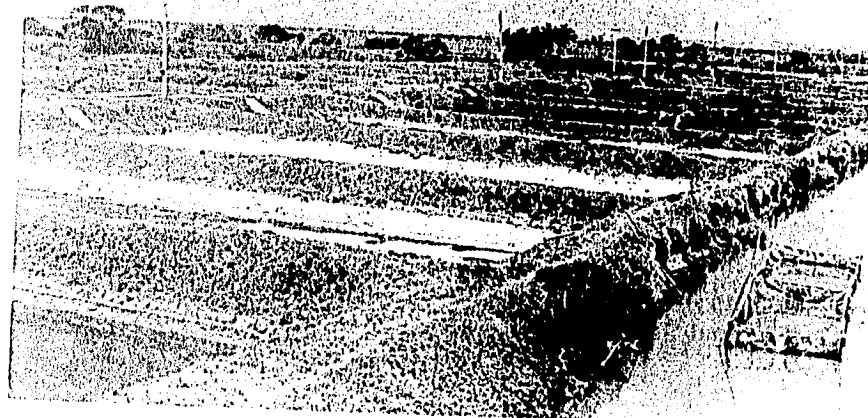
DENSIDAD ALEVINES/LITRO	CONTROL		CONTROL		CONTROL		CON HORMONA		CON HORMONA		CON HORMONA	
	5		10		15		5		10		15	
MUESTREC DIA	L	P	L	P	L	P	L	P	L	P	L	P
SIEMBRA	10.0	20	10.0	20	10.0	20	10.0	20	10.0	20	10.0	20
7	13.0	40	12.5	38	12.0	36	14.0	44	13.5	42	13.0	40
14	15.5	70	15.0	62	14.5	58	17.0	90	16.5	81	16.0	75
21	20.0	140	19.0	122	18.0	100	22.5	180	21.0	161	20.0	140
28	22.0	183	21.0	161	19.0	122	23.5	220	23.0	207	22.0	183

L = longitud en mm ( +/- 0.5 ).  
P = peso en mg ( +/- 1 ).

Fotografía 1. Drenado y secado de los estanques.



Fotografía 2. Encalado de los estanques.





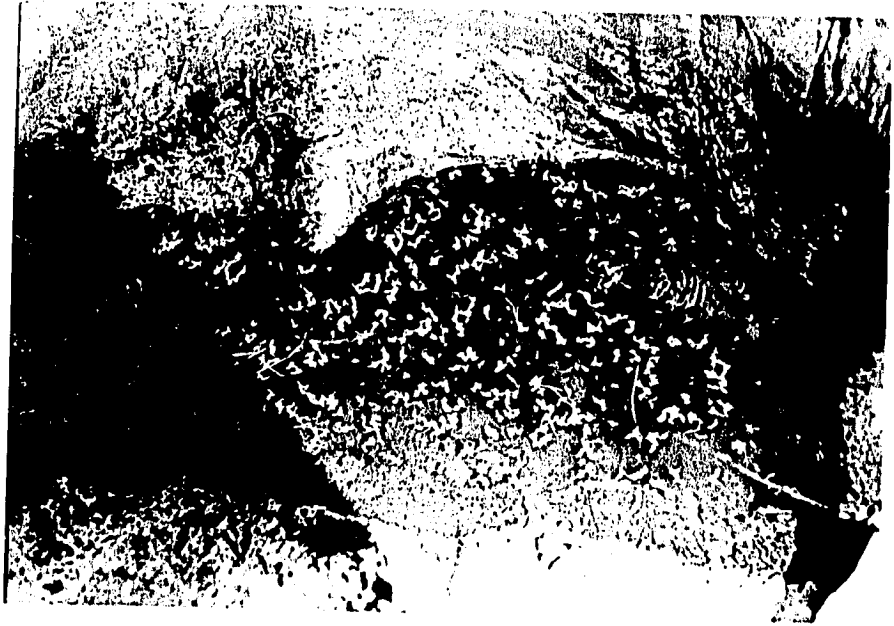
Fotografía 3. Llenado de los estanques con agua limpia y filtrada.



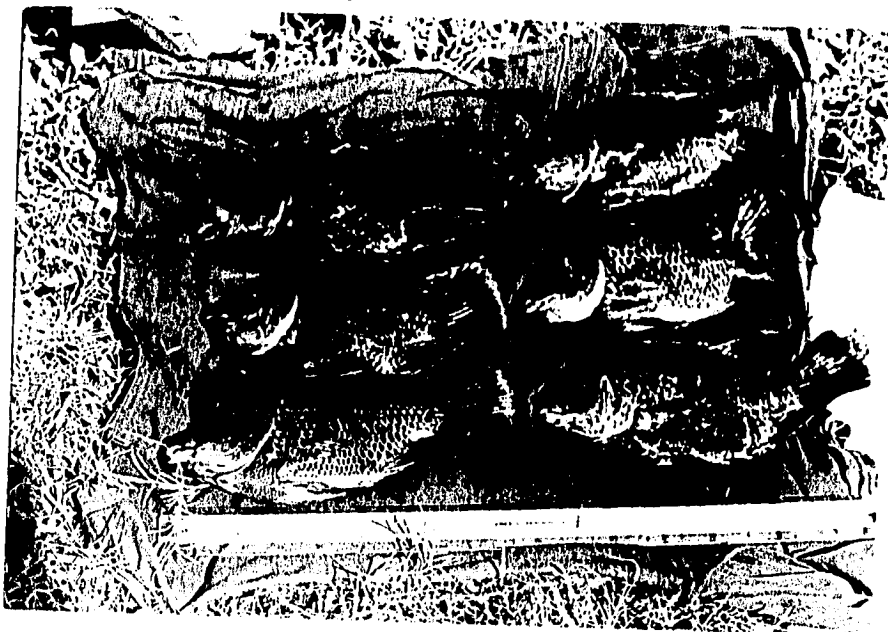
Fotografía 4. Eliminación de los insectos acuáticos, rociado de gasolina-diesel.



Fotografías 5 y 6. Insecto depredador furtivo *Notonecta glauca*.

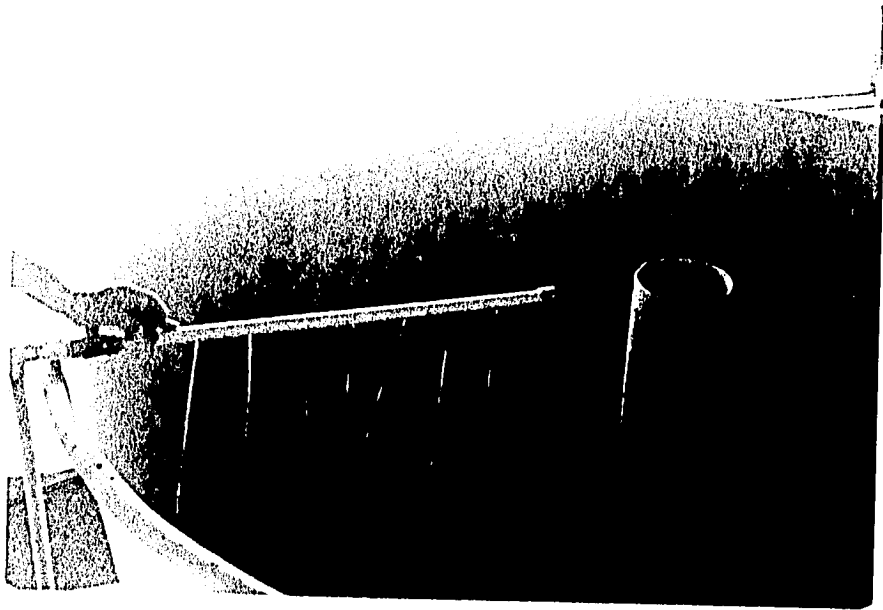


Fotografía 7. Selección y siembra de los reproductores.



Fotografía 8. Almacén del Centro Acuícola Los Amates, Veracruz.



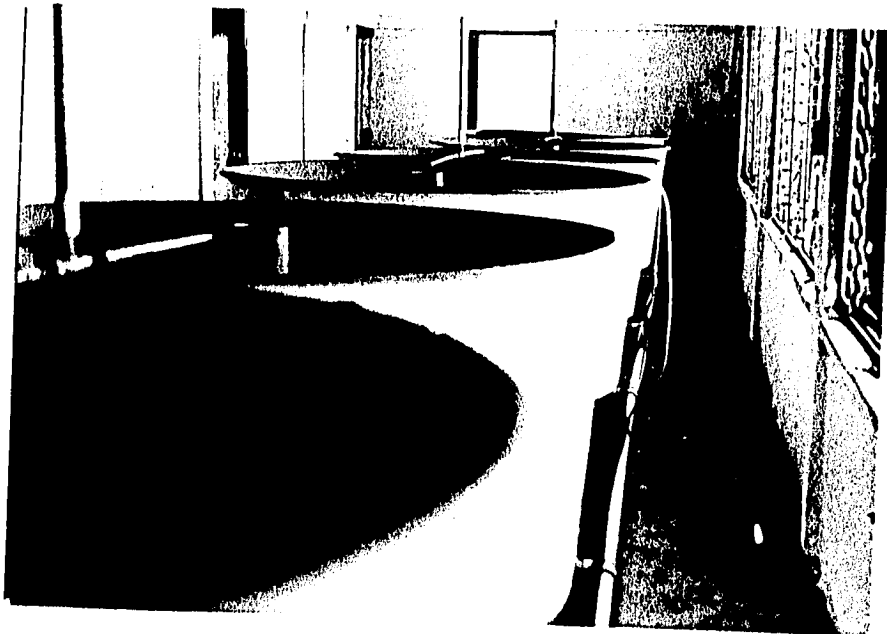


Fotografía No. 9 Tina de tratamiento.  
Entrada de agua .

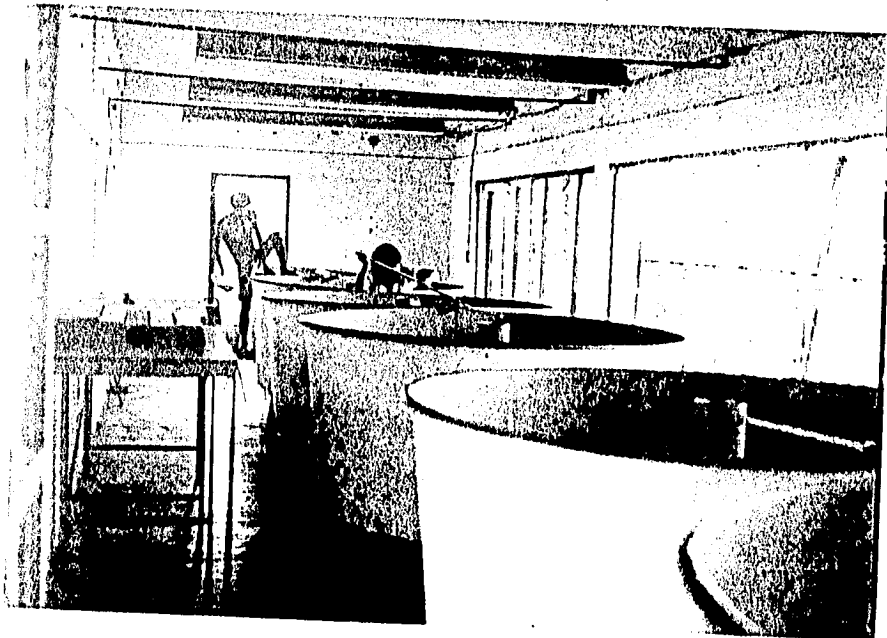


Fotografía No. 10 Tina de tratamiento.  
Salida de agua con  
Sifón al centro.

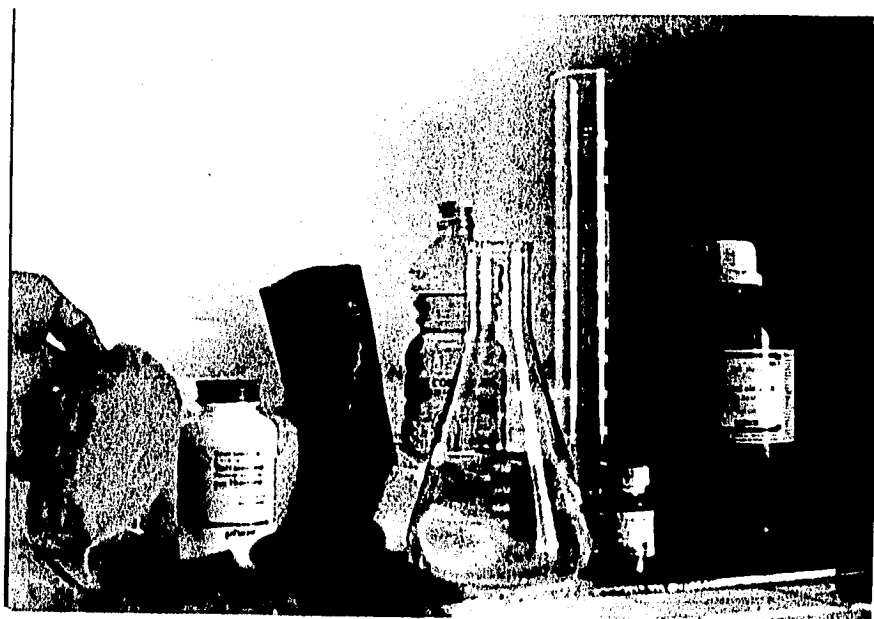
Fotografía 11. Tinas de tratamiento 1 a la 6.



Fotografía 12. Cepillado y limpieza semanal de las tinas de tratamiento.



Fotografía 13. Ingredientes para preparar el alimento con y sin hormona.



SYNTEX, S. A. DIV. QUIMICA  
 KM. 4 CARRETERA CUERNAVACA - CUAUTLA  
 APDO. POSTAL 517, CUICUI 62000  
 CUERNAVACA, MOR., MEXICO  
 TEL. 53100 TELER 173310

SECRETARIA DE PESCA - 291

DECLAR 21-II-05  
 P. L. VILLAS



CERTIFICATE OF ANALYSIS

MATERIAL <u>METIL TESTOSTERONA</u>		
LOT No. <u>C4-DQ-001</u> ANALYSIS No. <u>04 K 2641</u>		
SPECIFICATION No. <u>C-652</u>		
ANALYSIS	METHODS	RESULTS
APPEARANCE	M-35	White crystalline powder
LOSS ON DRYING	M-19	0.64%
MELTING RANGE	I1-7	164.5 - 165.0°C (As class 1a. USP-XX)
CLARITY OF SOLUTION	I1-36	Clear and free of foreign matter
SPECIFIC ROTATION $\left[ \alpha \right]_D^{25}$	M-8	+79.20, +79.30 (1.0% in Ethanol)
ULTRAVIOLET $E \frac{1\% \text{ SAMPLE}}{1 \text{ cm STANDARD}}$	M-9	530, 531 at 241 nm 522, 525 at 241 nm
INFRARED	M-11	Consistent with reference spectrum
ASSAY	I1-12	98.1%
F.R.S.	M-32	1.9% total

REMARKS

F-9-001-34

*PA. [Signature]*

RELEASED BY Dr. Miguel A. Díaz Parra DATE 21-II-05