



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

**Determinación de la eficiencia de la hormona
Mesterolona (ME) como tratamiento de
Reversión Química del Sexo frente a la Metil
Testosterona (MT) para Tilapia híbrida roja.
(*Oreochromis mossambicus*)**



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

TESIS DE GRADO

Previa a la Obtención del Título de:

ACUICULTOR

Presentada por:

Arturo W. Arias Hidalgo

Guayaquil - Ecuador

1995



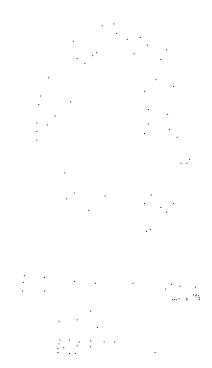
AGRADECIMIENTOS

Al M.Sc. Ecuador Marcillo G. Director de tesis, por su gran ayuda y colaboración para la realización de este trabajo.

Al Ac. Jerry Landivar por su prestación como asesor y como amigo para el desarrollo de la tesis.

A todos los profesores de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, por todos sus conocimientos brindados.

Al Sr. Richard Martín por su colaboración y soporte para la ejecución de la tesis.



DECLARACION EXPRESA

"La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente: y, el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL".

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de las ESPOL).

Arturo wilfrido Arias Hidalgo

RESUMEN

*El presente trabajo de investigación experimental se demostró la eficiencia del uso de la hormona Mesterolona (ME), como posible droga alterna de la Metil-testosterona (MT) para reversión química del sexo del híbrido rojo de tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Este ensayo se lo realizó obedeciendo los procedimientos de la técnica de reversión química del sexo; el único cambio fué la hormona para reversión. El trabajo de investigación se lo enmarcó en dos aspectos importantes:*

- Científicamente, donde se demostró la eficiencia de la hormona Mesterolona como droga sustituta, a una concentración tal que se pueda obtener una reversión química del sexo mayor 95% de machos.

- Operacional, donde existió la posibilidad de obtener la droga alterna (ME) con facilidad, que la común (MT) utilizada la cual debe ser importada y difícil de conseguir en los mercados locales.

Para los ensayos realicé cuatro tratamientos en el siguiente orden:

a) El Control (tratamiento 1) se utilizó hormona Metil-testosterona con una concentración de 60 mg/Kg de alimento.

b) Prueba 1 (tratamiento 2) se empleó la hormona a investigarse Mesterolona (ME) con una concentración de 30 mg/Kg de alimento.

c) Prueba 2 (tratamiento 3) se realizó con hormona (ME) con una concentración de 60 mg/Kg de alimento.

d) Prueba 3 (tratamiento 4) utilizamos la hormona (ME) con una concentración de 90 mg/Kg de alimento.

Cabe indicar que la alimentación suministrada en los distintos tratamientos fué 4 veces al día, 7 días a la semana y la cantidad total de alimento suministrada diaria es igual para todos los tratamientos por 28 días. Además cada tratamiento tuvo 4 réplicas.

Para los tratamientos se utilizó 4 módulos (corrales grandes) de 2 m³ colocados en el interior de un estanque de 800 m² con nivel de la columna de agua de 60 cm. Cada módulo estuvo dividido en 4 espacios; cada espacio fué

ocupado por jaulas para reversión de 0.125 m². La densidad carga para cada jaula fué 2400 post-larvas/m².

Finalizados los estudios de la fase de reversión, los peces fueron liberados de las jaulas pequeñas y mantenidos en los espacios de los corrales por 55 días. Una vez culminanda la fase de precría se cosecharon los peces y se procedió al sexaje microscópico.

Se realizaron los análisis estadísticos respectivos de cada tratamiento; se determinó que los porcentajes promedios de los machos para cada caso fué de 96.45%; 73.86%; 87.76%; 94.4%, también se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos con sus respectivas réplicas, demostrandose una diferencia significativa para todos los grupos ($P = 0,05$), comprobándose finalmente que la hormona Mesterolona puede ser suministrada a una concentración mayor de 90 mg/Kg en el alimento durante 28 días para obtener una reversión química del sexo mayor de 95% de machos.

INDICE GENERAL

	Pag.
RESUMEN.....	5
INDICE GENERAL.....	8
INDICE DE FOTOS.....	10
INDICE DE TABLAS.....	11
INDICE DE FIGURAS.....	13
INTRODUCCION.....	14
I. GENERALIDADES BIOLOGICAS DE LAS TILAPIAS.....	17
1.1. Biología de la tilapia.....	17
1.2. Clasificación taxonómica.....	21
1.3. Métodos de control de población.....	22
1.4. La Reversión Química como técnica de cultivo monosexo.....	26
1.5. Aspectos generales de los andrógenos y esteroides anabólicos.....	29
1.6. Ventajas y desventajas de la técnica.....	36
II. DESCRIPCION DEL LUGAR DE ESTUDIO.....	39
2.1. Localización y Descripción del lugar.....	39
2.2. Descripción de las instalaciones.....	40
2.3. Diseño del experimento.....	42
2.4. Parámetros que deben considerarse.....	45

III. MATERIALES Y METODOS.....	47
3.1. Diseño de los módulos para reversión química del sexo.....	47
3.2. Diseño y ubicación de las jaulas para reversión química del sexo.....	50
3.3. Ingredientes utilizados en la dieta para reversión química del sexo para cada tratamiento.....	53
3.4. Preparación del alimento para reversión química del sexo.....	55
3.5. Seguimiento de la técnica de reversión química del sexo.....	57
3.6. Análisis de datos preliminares obtenidos de los alevines reversados.....	64
3.7. Seguimiento de los alevines reversados.....	77
IV. RESULTADOS Y EVALUACION DEL ENSAYO.....	79
4.1. Cosecha de los organismos reversados.....	79
4.2. Observación microscópicas del sexo de los organismos.....	79
4.3. Análisis estadísticos.....	80
4.4. Resultados.....	90
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	92
BIBLIOGRAFIA.....	95

INDICE DE FOTOS

<i>Foto # 1. Piscigranja donde se realizó el experimento.....</i>	<i>41</i>
<i>Foto # 2. Módulos de 2 m³ instalados en la piscina para reversión y pre-cría de los alevines.....</i>	<i>49</i>
<i>Foto # 3. Divisiones de los módulos con capacidad de 0.5 m³ c/división.....</i>	<i>49</i>
<i>Foto # 4. Jaulas para reversión instaladas dentro de las divisiones de los módulos con sus respectivo comedero.....</i>	<i>52</i>
<i>Foto # 5. Placas para observación de gonadal.....</i>	<i>83</i>
<i>Foto # 6. Observación microscópica de las gónodas femeninas (fig. 9).....</i>	<i>84</i>
<i>Foto # 7. Observación microscópica de las gónodas masculinas (fig. 10).....</i>	<i>84</i>
<i>Foto # 8. Observación microscópica de ovotestes (fig. 11).....</i>	<i>85</i>

INDICE DE TABLAS

I.	Tabla de distribución del diseño experimental...	44
II.	Tablas de distribución de la frecuencia de las longitudes del híbrido rojo de tilapia.....	59
III.	Tablas de crecimiento y alimentación para reversión química del sexo de <i>T. nilótica</i>	62
IV.	Tabla de ajuste de alimentación de las post-larvas en proceso de reversión.....	63
V.	Tabla de seguimiento de las post-larvas en reversión.....	65
VI.	Tabla de frecuencia de las longitudes del control.....	67
VII.	Tabla de frecuencia de las longitudes de la Prueba 1.....	69
VIII.	Tabla de frecuencia de las longitudes de la Prueba 2.....	70
IX.	Tabla de frecuencia de las longitudes de la Prueba 3.....	71
X.	Tabla de análisis de varianza (ANOVA) de la medias de longitudes.....	73
XI.	Tabla de seguimiento de los alevines reversados.....	78
XII.	Tabla de sobrevivencias obtenidas de los juveniles cosechados.....	82

XIII. *Tabla de porcentajes de machos obtenidas en cada tratamiento con sus debidas réplicas..... 82*

XIV. *Rangos del promedio de macho de cada tratamiento..... 82*

XV. *Datos y tabla de ANOVA..... 88*

INDICE DE FIGURAS

Fig. # 1.	Estructura química del andrógeno.....	29
Fig. # 2.	Estructura química de la Testosterona.....	30
Fig. # 3.	Estructura química de la Metil Testosterona.....	35
Fig. # 4.	Estructura química de la Mesterolona.....	36
Fig. # 5.	Longitud vs Frecuencia de la semilla seleccionada.....	60
Fig. # 6.	Longitud vs Frecuencia de la semilla antes y después de la reversión.....	68
Fig. # 7.	Longitud vs Frecuencia de los alevines reversados entre el control y la prueba 1...74	
Fig. # 8.	Longitud vs Frecuencia de los alevines reversados entre el control y la prueba 2...75	
Fig. # 9.	Longitud vs Frecuencia de los alevines reversados entre el control y la prueba 3...76	

INTRODUCCION

El cultivo del híbrido rojo de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) ha tomado gran importancia en la producción de proteína animal en las distintas aguas tropicales del país. La tilapia roja tiene atributos favorables tales como: gran resistencia física, rápido crecimiento, resistencia a las enfermedades, habilidad para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno y amplio rango para salinidades, posee la capacidad de nutrirse a partir de una gran variedad de alimento natural y artificial. El brillante color rojo que posee esta especie hace que tenga características muy atractivas en el mercado internacional y por ende alcanza un mayor precio de venta.

Una de los inconvenientes que presenta el cultivo de tilapia en cautiverio es su pronta reproducción ocurriendo una sobrepoblación en los estanques (21). Su excesiva reproducción minimiza la producción debido al tamaño del pez (17), (27). Produciendo poco crecimiento de la verdadera población cultivada, ocurriendo así un fenómeno denominado enanismo o atrofia del crecimiento a causa de la competencia por alimento y espacio en condiciones controladas.

Mencionaremos algunas técnicas que han eliminado o reducido la reproducción de estos peces: stock combinado con peces piscívoros (27); cultivo en jaula (22); cultivo monosexo (17) y (26); hibridación (18) y reversión sexual (6). Empleando estas técnicas con el engorde de poblaciones de más del 95% de machos permite obtener peces de tamaño comercial sin problema mayores de sobrepoblaciones.

Entre estas técnicas, la reversión química del sexo aparece como uno de los viables (Shelton 1978). Este método consiste en el desarrollo de poblaciones monosexo mediante el suministro, por un espacio de tiempo, de un agente androgénico, el cual interfiere con los mecanismos de determinación sexual de la fracción femenina de la población (23). Yamamoto en 1969 concluyó que las hormonas esteroideas son los inductores de la diferenciación sexual en los teleosteos, teniendo los andrógenos un efecto masculinizante y los estrógenos una acción feminizante.

La efectividad de los tratamientos de reversión dependen entre otros factores de la eficacia y tipo de andrógeno a utilizarse, considerandose más eficiente los activos por vía oral (24).

Se ha demostrado que el uso de la hormona 17-Alfa-Metil-testosterona con una dosis de 60 mg/kg de alimento, se obtiene una reversión sexual del 95% machos por 28 días (23).

Todos los insumos necesarios para la implementación de la técnica de reversión química del sexo en nuestro país, se encuentran disponibles a excepción de la hormona (MT), utilizada en la preparación de las dietas, debiendo ser importada o comprada localmente con las complicaciones que presentan los fármacos importados.

El objetivo principal de este trabajo fué demostrar la eficacia de la hormona Mesterolona (ME) como hormona sustituta de la Metil-Testosterona (MT), probando su viabilidad con esta técnica de reversión química del sexo en post-larvas tilapia roja, bajo igualdad de condiciones.

CAPITULO I GENERALIDADES BIOLOGICAS DE LAS TILAPIAS

1.1. REQUERIMIENTOS ECOLOGICOS DE LAS TILAPIAS

Fuera de sus areas originales de distribución, las tilapias han colonizado hábitats muy diversos: arroyos permanentes y temporales, rios, lagos, lagunas, estuarios e incluso habitat marinos. Todos estos ecosistemas representan unos extraordinarios rangos de variaciones de distintos parámetros físicos, químicos y biológicos.

Entre los requerimientos ecológicos más importantes que deben considerarse en el cultivo del híbrido rojo de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) en cautiverio, se destacan las siguientes.

- *Temperatura.*- Las tilapias prefieren temperaturas elevadas y por lo tanto es uno de los factores ambientales que se deberán tomar en cuenta al elegir un probable sitio para su cultivo. Por ello su distribución se restringe a áreas cuyas isoterms del invierno sean superiores a los 20 °C. El rango natural de temperaturas en el que habita la tilapia oscila entre 20 °C y 30 °C aunque pueden soportar temperatura menores (3).

- *Salinidad.*- Estos peces son de agua dulce que evolucionaron a partir de un antecesor marino; por lo tanto conservan en mayor o menor grado la capacidad de adaptarse a vivir en aguas saladas (eurihalinos) (2), sin embargo se ha observado que las concentraciones muy altas (30 - 40 ppm) algunas especies de tilapia no pueden reproducirse debido a la presión osmótica sobre los huevecillos.

*
- *Oxígeno Disuelto.*- Pueden vivir en condiciones ambientales adversos debido precisamente a que soporta bajas concentraciones de oxígeno disuelto. Ello se debe a la capacidad de su sangre a saturarse de oxígeno aun cuando la presión parcial de este último sea baja (14). Así mismo, la tilapia tiene la facultad de reducir su consumo de oxígeno cuando la concentración disminuye (3). Se desarrolla normalmente en presencia de concentraciones de 5 mg/lt (1). Finalmente si el oxígeno disuelto baja menos 3 mg/lt baja el metabolismo (7).

- *Potencial de hidrógeno (pH).*- Los valores del pH en un cultivo no se refieren a su efecto directo sobre las tilapias, sino más bien que favorezcan la productividad natural del estanque. Así, el rango conveniente del pH del agua para piscicultura oscila entre 7 y 8 (13).



- *Alcalinidad y dureza.*- La alcalinidad y dureza del agua afecta directamente al metabolismo de los organismos, reduciendo la producción total de tilapia. Una alcalinidad de aproximadamente 75 mg CaCO_3/lt se considera adecuada y propicia para enriquecer la productividad del estanque (10).

- *Turbidez.*- Estos peces se han adaptado a habitar en medios muy diversos en cuanto a la composición y calidad de agua. La turbidez del agua tiene dos tipos de efectos: uno sobre el medio y se debe a la dispersión de la luz y el otro actúa de manera mecánica directamente sobre los peces. Los estanque no deben tener una turbidez mayor a 25 cm. (10).

1.2. CLASIFICACION TAXONOMICA

Posición taxonómica.

<i>PHYLUM:</i>	<i>Vertebrata</i>
<i>SUBPHYLUM:</i>	<i>Craneata</i>
<i>SUPERCLASE:</i>	<i>Gnathostomata</i>
<i>SERIE:</i>	<i>Pisces</i>
<i>CLASE:</i>	<i>Teleostea</i>
<i>SUBCLASE:</i>	<i>Actinopterygii</i>
<i>ORDEN:</i>	<i>Perciformes</i>
<i>SUBORDEN:</i>	<i>Percoidei</i>
<i>FAMILIA:</i>	<i>Cichlidae</i>
<i>GENEROS:</i>	<i>Oreochromis</i>
<i>ESPECIE:</i>	<i>mossambicus*</i>
<i>NOMBRE COMUN:</i>	<i>Híbrido rojo de tilapia.</i>

* De acuerdo con la FAO, (1979) la tilapia roja *Oreochromis mossambicus* parece ser, que se origino como resultado del cruzamiento de un mutante blanco de *O. mossambicus* y *O. niloticus* en Taiwán.

1.3. METODOS DE CONTROL DE POBLACION

La reproducción incontrolada de las tilapias bajo condiciones de cautiverio ocasiona el "enanismo" de la población; realizando policultivo también llega a afectar el crecimiento de otras especies. Para evitar estos efectos indeseables se han desarrollado diversos métodos para controlar la reproducción, los cuales se pueden clasificar como: métodos genéticos y no genéticos.

- Métodos No Genéticos.

a) *Uso de depredadores.*- Al alimentarse de las crías jóvenes de tilapia, las especies piscívoras introducidas a un cultivo de tilapias pueden contribuir a regular el tamaño de la población. Sin embargo, en la práctica es difícil obtener resultados satisfactorios al no poderse predeterminar con exactitud el número y la talla de los depredadores

que deban ser introducidos en los estanques para contrarrestar la población de tilapias que se pretende engordar (27).

b) *Cultivo Monosexado.*- Las poblaciones monosexadas de machos son los que a la fecha han dado mejores resultados de productividad (16). La selección de machos pueden hacerse en forma manual o mediante la reversión sexual hormonal (27).

La reversión sexual hormonal ha sido probada a escala comercial y consiste en suministrar testosterona a las crías recién nacidas en dosis tales que las gónadas se desarrollen en testículos. La testosterona se suministra a través del alimento en cuanto se concluye la absorción del saco vitelino (24).

c) *Esterilización reproductiva.*- Aún no se han desarrollado métodos efectivos

para la esterilización de las tilapias que pueden ser empleados en sistemas productivos de piscicultura (21). Las pruebas de esterilización que han realizado es mediante el uso de radiaciones gamma (21). de reproducción (14).

d) Cultivo en jaulas.- Como es conocido las tilapias requieren de un sustrato o pisos sobre el cual construyen su nido, en una jaula resultaría casi imposible la reproducción. Sin embargo en la práctica se utiliza como técnica de cultivo y no para el control de reproducción (22). pueden reproducirse entre sí pero que se aislan

e) Cultivo en alta densidad de población.- Los hábitos reproductivos se alteran, e incluso se suprimen, cuando la densidad de población es sumamente elevada, este método presenta el inconveniente de que por otra parte los zedros no alcanzan tallas comerciales grandes (25).

f) *Cultivo en agua de mar.*- La actividad reproductiva de la mayoría de las tilapias cesan cuando la salinidad del agua es elevada. Pero esto es considerado como técnica de cultivo y no para el control de reproducción (14).

- Métodos Genéticos.

a) *Hibridación interespecífica.*- La producción interespecífica de híbridos es contradictorio con la definición clásica de una especie: grupos de poblaciones que pueden reproducirse entre sí pero que se aíslan reproductivamente de otros grupos. Este aislamiento se puede deber a barreras de tipo fisiológicos de comportamiento geográfico (14).

Los cruzamientos más exitosos (>97 % de ♂) se han realizado con progenitores genéticamente puros de distintas

especies (11), como la cruza del O. niloticus como hembra y O. hornorum como macho. Cabe destacar que la pureza genética es fundamental para lograr resultados positivos (11).

b) Hibridación específica.- Otro método genético para obtener híbridos machos, consiste en revertir hormonalmente a un sexo para emplearlo como progenitor y cruzarlo con organismos normales de la misma especie. De esta manera la progenie resulta también monosexada (16).

1.4. LA REVERSION QUIMICA COMO TECNICA DE CULTIVO MONOSEXO.

La descripción del potencial de producción del híbrido rojo de tilapia en Acuicultura está dominada por aspectos positivos, pero una desventaja del cultivo utilizando peces de ambos sexos es la sobrepoblación y la

atrofia del crecimiento. El engorde de poblaciones por lo menos de 95% de machos alivia este problema y simultáneamente capitaliza en la tasa de crecimiento superior de los machos (23).

Uno de las técnicas para producir tilapias machos es la llamada Reversión Química del Sexo (RQS) para tilapia roja híbrida. Lo cual involucra la adición temporal de una hormona sintética masculina en la dieta durante el estado post-larvario del pez. Esta dieta es suministrada antes de que los tejidos de las gónadas se hayan diferenciado en ovarios o testículos. Después de tres o cuatro semanas de tratamiento, todos o casi todos los peces son funcionalmente machos (23).

Antiguamente las operaciones de RQS estuvieron restringidas a las instalaciones con "agua limpia"; para evitar la posible dilución de los

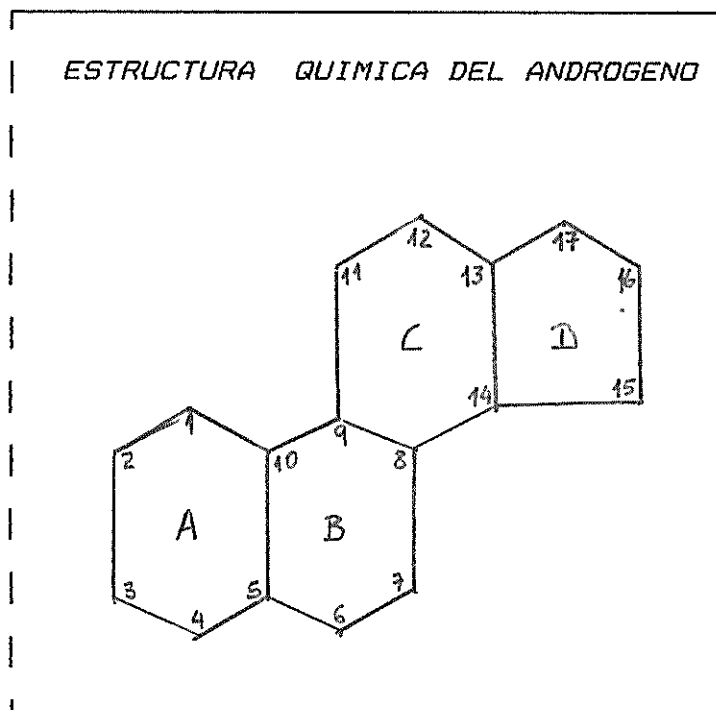
niveles de hormona en la sangre como resultado de la ingestión del alimento natural. Esta precaución impuso una gran restricción en la aplicación de la técnica, debido a la necesidad de contar con un laboratorio que tuviera previsto con agua de pozo o filtros apropiados. Sin embargo durante 1982 - 1983 investigadores tanto de los Estados Unidos como Israel demostraron experimentalmente que la presencia de abundante alimento natural en suspensión, tal como ocurre en los estanques de tierra, no interfiere con una exitosa reversión del sexo (23).

La factibilidad técnica de la RQS de tilapias ha sido ampliamente demostrado (23) utilizando como andrógeno sintético 17-Alfa-Metil-testosterona (MT) obteniéndose así un 95% de tilapia macho con una dosis de 60 mg MT/Kg de alimento.

1.5. ASPECTOS GENERALES DE LOS ANDROGENOS Y ESTEROIDES ANABOLICOS

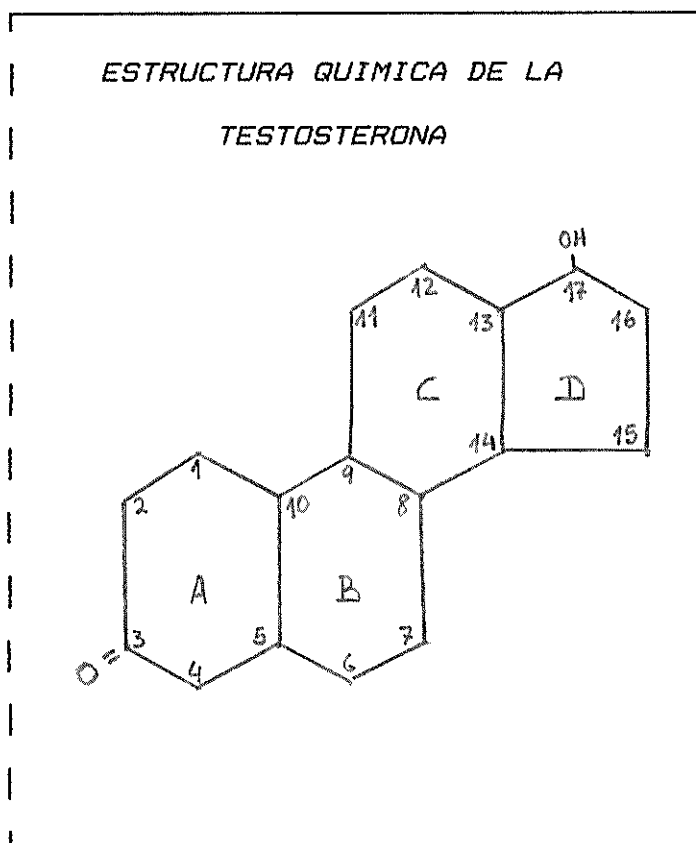
Los andrógenos y los esteroides anabólicos derivan del ciclopentano-per-hidrofenantreno (esterano) igual que los corticosteroides y los estrógenos con lo que están relacionados. Son derivados del hidrocarburo androstano o etioalcolano y actualmente se preparan por síntesis (8). (ver figura # 1).

Fig. # 1



De los 4 anillos unidos entre sí, los designados con letras A, B y C contienen 6 átomos de carbono, mientras que el anillo D tiene 5 átomos de carbono. Todos los átomos de carbono se enumeran correlativamente (28). Tal como se observa en la estructura química. (ver figura # 2).

Fig. # 2



Los andrógenos pertenecen al grupo de los C19 - esteroides. La testosterona, la hormona sexual masculina natural, se caracteriza por un grupo hidróxilo en la posición c17.

Esta sustancia sirve de punto de partida para la síntesis de algunos compuestos muy importantes, de efectos diferentes:

1. Mediante la esterificación con el ácido propiónico o con el ácido enántico se obtienen andrógenos de elevada actividad con diferentes duración de su defecto.

2. Introduciendo un grupo metilo en posición c17 se obtiene la Metil-testosterona, un andrógeno activo por vía oral.

3. Introduciendo un grupo etinilo en la misma posición c17 y eliminando

simultáneamente del grupo metilo en posición 19, se obtiene un gestageno, activo por vía oral. Tanto los ovarios como los testículos segregan testosterona. Las sustancias derivan del androstano y poseen oxígeno en la

Acción farmacológica.— Los andrógenos ejercen su acción sobre órganos y caracteres sexuales secundarios, tanto en el sexo masculino, como en el femenino, y además poseen potentes acciones metabólicas. Se eleva mucho con el agregado de un halógeno

Su acción fundamental consiste en el desarrollo y mantenimiento de los órganos sexuales y caracteres sexuales secundarios masculinos. La acción sobre el sexo femenino produce fenómenos de virilización y se puede inhibir y suprimir la maduración de los folículos ováricos.

— El agregado de un grupo alquilo, metilo, etilo en el carbono 17 en



Relación entre la estructura química y acción farmacológica.—

Via bucal, pero también la propiedad eventual de — Para que exista acción androgénica es necesario que las sustancias deriven del androstano y posean oxígeno en las posiciones 3 y 17. por vía bucal no afecta al hígado.

— La potencia androgénica aumenta cuando el oxígeno Ten el carbono 17 forma un grupo hidróxilo en posición β , dicha potencia se eleva mucho con el agregado de un halógeno como el fluor en la posición 9. Las drogas disminuyen la velocidad de este

— Una sustitución en las posiciones 1 o 2 y/o el agregado de un doble enlace en el anillo A del sistema anular esteroide aumenta la acción anabólica y disminuye la androgénica. Se llaman anabólicos. en el intestino, se metabolizan e inactivan el hígado

— El agregado de un grupo alquilo, metilo, etilo en el carbono 17 en

posiciones trans o alfa confiere al elemento actividad por vía bucal, pero también la propiedad eventual de provocar trastornos hepáticos (Ictericia) en cambio si el grupo metilo se encuentra en la posición 1 el compuesto activo por vía bucal no afecta al hígado.

Farmacocinética.— Todos los andrógenos se absorben bien aunque lentamente por vía muscular en solución oleosa. Son liposolubles y se separan lentamente del aceite; la esterificación de las drogas disminuyen la velocidad de esta absorción aumentando la duración de la acción y la eficacia de las mismas.

Los preparados de testosterona son poco activos por vía oral pues una vez absorbidos en el intestino, se metabolizan e inactivan el hígado (Poulsen C.A. 1974), por otra parte los preparados que poseen grupo metilo en

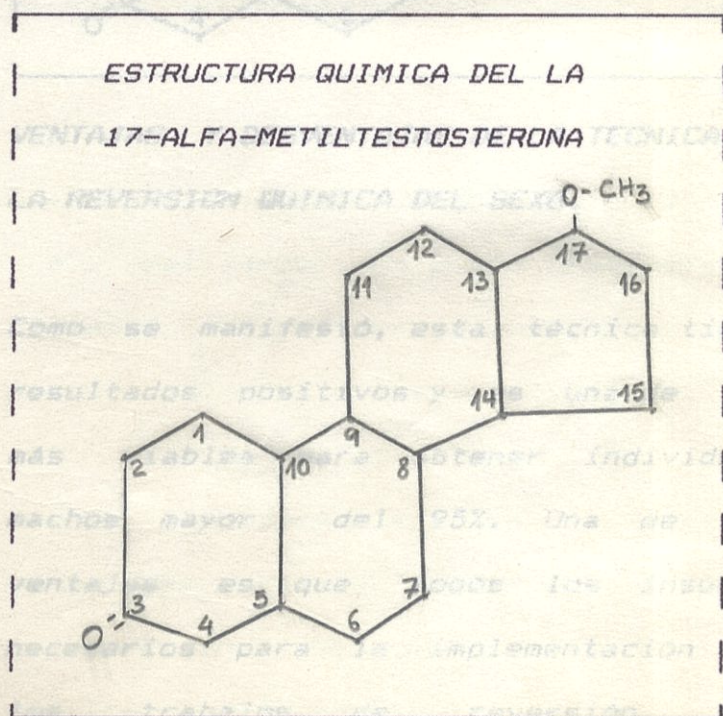
el **carbono** (17 β -h) como **la** **Metil Testosterona**, **Posefluoximeterolona**, **oximetolona**, **estenzolaluro** bien en el **carbono** 1 como **la Mesterolona** que **escapan** a dicha **inactivación** y **son** **activos** por **vía bucal**.

MESTEROLONA

Estructura química de los andrógenos.-

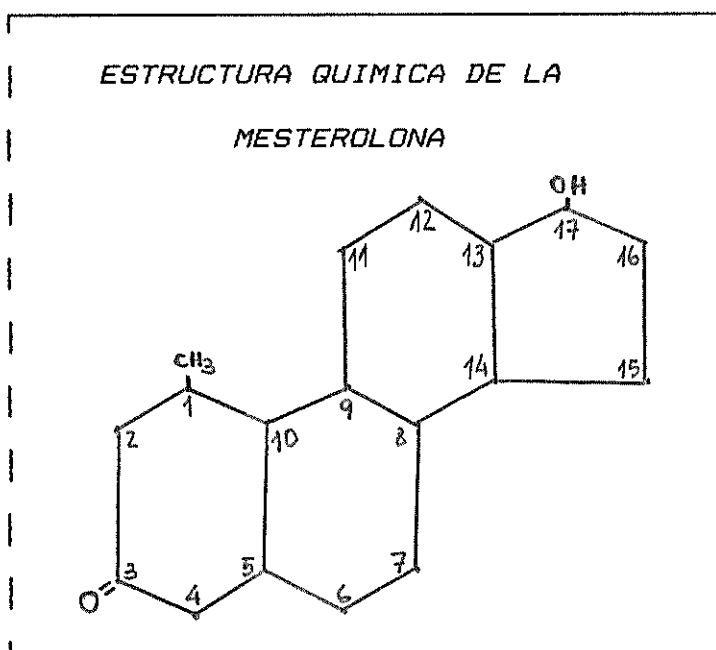
a) **17-alfa-metiltestosterona** (17 β -hidroxi-17-A-metil-4-androstan-3-ona).
Posee un grupo metilo en el carbono 7. (ver figura # 3).

Fig. # 3



b) Mesterolona (17β -hidroxi-1 α -metil-5-androstan-3-ona). Posee un grupo metilo en el carbono 1. (ver figura # 4).

Fig. # 4



1.6. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA TECNICA DE LA REVERSION QUIMICA DEL SEXO.

Como se manifestó, esta técnica tiene resultados positivos y es una de los más viables para obtener individuos machos mayor del 95%. Una de las ventajas es que todos los insumos necesarios para la implementación de los trabajos de reversión, se

encuentran disponibles a excepción de la hormona 17-Alfa-Metil-Testoterona que debe ser importada.

Otra ventaja, es que este método es más eficiente dado que todos los peces pueden ser transferidos sin inspeccionar el sexo visualmente a cada individuo, no se requiere de mano de obra intensiva como ocurre con el método de separación manual de sexos por medio del examen visual de la papila urogenital de los peces juveniles (24).

Además, se establece que esta técnica puede realizarse con o sin presencia de alimento natural en suspensión lo cual no interfiere en la reversión.

Una de las desventajas de la técnica serían los factores físicos que afectan la reversión del sexo, los que se detallan a continuación:

- *Tamaño inicial máximo de tratamiento* debera ser entre 7 y 11 mm de longitud, pero luego se comprobó que esta podría ser hasta 15mm. Estableciendo así un 98% de machos ($P < 0.2$) (23).

- *Tamaño mínimo final.* El tratamiento debe continuar hasta que el tejido gonadal de las post-larvas se halla diferenciado en testiculos. Por lo tanto parece lógico que después del tratamiento un alto porcentaje de hembras se encuentra entre los alevines más pequeños (23). Alcanzando los peces finalizando el tratamiento un tamaño mínimo de >17 mm, que en la práctica resulta una población compuesta en su mayoría por machos considerando exitoso el tratamiento.

CAPITULO II DESCRIPCION DEL LUGAR DE ESTUDIO.

2.1. LOCALIZACION Y DESCRIPCION DEL LUGAR.

El cuerpo de agua utilizado para el presente trabajo se encuentra en las instalaciones del Programa de Tecnología Agrícola de la ESPOL, Colegio GALO PLAZA LASSO (ver foto 1). Localizado en el Cantón Daule, Provincia del Guayas. En este lugar se encuentra disponible un área piscícola de 0.5 Ha., con un total de 5 piscinas y cada estanque tiene un área de 0.08 Ha.

Para el abastecimiento de agua a las piscinas, se lo realizó por un canal reservorio elevado; el agua es proveniente del río Daule; y la evacuación del agua de los estanques se la realizó por gravedad por un sistema de tuberías independiente para cada estanque.

2.2. DESCRIPCION DE LAS INSTALACIONES.

Para el ensayo se utilizó una sola piscina, se instalaron 4 módulos (corrales grandes). Cada módulo se dividió en 4 espacios con pantallas de mallas.

En cada espacio se colocaron jaulas pequeñas para mantener a las post-larvas durante el proceso de reversión sexual.

La distancia entre módulos fué de 1,5 m. utilizando un total de 18 m² donde se montó toda la intalación.

Cabe destacar, que los módulos (corrales grandes) fueron cubiertos con mallas, con el propósito de protección de las aves depredadoras e insectos acuáticos.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA 41

FOTO # 1. Piscigranja donde se realizó el Experimento. DEL EXPERIMENTO



2.3. DISEÑO DEL EXPERIMENTO

La tesis fue orientada de la siguiente manera:

- La necesidad (de que las post-larvas sometidos al tratamiento se encuentren en el mismo medio (un estanque).
- Seguridad en que la única variable en experimentación sea la hormona sustituta (ME).
- La longitud inicial de las post-larvas a investigarse sea menor a los 15 mm de longitud.
- Disponer de los recursos y medios necesarios para evaluar varias réplicas de un mismo tratamiento.

Para el ensayo se utilizaron 4 dietas (1 control y 3 tratamiento) con

diferentes concentraciones de hormonas, con 4 réplicas cada uno, utilizándose un total de 16 tratamientos.

Las hormonas a utilizarse son: 17-Alfa-Metil-Testosterona que servirá de control y la Mesteroiona que es la droga a investigarse (ver la tabla I).

Las densidades de siembra de los ensayos fueron establecidos basándose principalmente en la bibliografía consultada, en relación a trabajos realizados utilizando especialmente sistemas de jaulas flotantes.

La distribución de los tratamientos en jaulas fue completamente al azar.

Tabla I

TABLA DE DISTRIBUCIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

MÓDULO	# de jaulas en cada módulo (Réplicas)	Dosis horariales de la dieta (sg/kg)				Días de alimentación semanal	Número de días de Tratamiento	Frecuencia alimentación por día	Horas de Alimentación
		MT	ME	ME	ME				
1	4	60	30	60	90	7	28	4	8, 10 am, 12, 14 pm
2	4	60	30	60	90	7	28	4	8, 10 am, 12, 16 pm
3	4	60	30	60	90	7	28	4	8, 10 am, 12, 16 pm
4	4	60	30	60	90	7	28	4	8, 10 am, 12, 16 pm

MT = Metil testosterona

ME = Mesterolona

2.4. PARAMETROS QUE DEBEN CONSIDERARSE

Para la obtención de la información sobre las variaciones físicas y químicas del agua durante el período experimental, se evaluó: oxígeno disuelto, temperatura y pH. La temperatura y oxígeno se tomaron dos veces al día y el pH cada semana.

Se realizó (muestreo del cultivo aleatoreamente cada 15 días. Se analizó en cada muestreo un 25 % de la población de cada jaula. Registrándose datos de peso y longitud patrón, empleando para ello balanzas grameras con exactitud de 0.1 g e ictiómetro con exactitud de 1mm. La información obtenida de cada muestreo fue sujeta a análisis estadísticos.

Para evitar que la dieta con la hormona pueda ser ingerido por otros peces, se colocó comederos limitando

el área para el alimento sin que se expanda. Considerando siempre que el pez se acostumbra alimentarse en los lugares establecidos por los comederos; el alimento sumergido fué recogido en platos recolectores sin problema.

Al final del período experimental, la población de cada jaula fue sujeta a pesado, medición y sexado.

CAPITULO III MATERIALES Y METODOS

3.1. DISEÑO DE LOS MODULOS PARA REVERSION QUIMICA DEL SEXO.

La función fundamental de los corrales es la de retener a los peces, permitiendo, el intercambio de agua, entre la jaula en el ambiente que la rodea. Esta función está principalmente influenciada por el volumen, la forma y el material que se usa para mantener en cautiverio a los peces.

Para el experimento, como se mencionó, se utilizó 4 módulos (corrales) con armazon de madera y malla en forma de diamante plástica de 4mm. (Foto. # 2). Cada módulo se construyó con las siguientes dimenciones: (2 x 1 x 1) m con area de 2 m² y volumen de 2 m³.

Cada módulo se lo dividió con pantallas de las mismas mallas (Foto. # 3), a 4 espacios por módulo; las dimensiones de cada espacio de (1 x 0.5 X 1) m. con volumen de 0.5 m³; estableciendo un total de 16 compartimientos para cada espacio en los cuatro módulos.

Como norma de seguridad los módulos sobresalían 30 cm. de la superficie de la columna de agua. Además fué cubierto con malla de las mismas dimensiones para protegerlos de los depredadores.

FOTO # 2. Módulos de 2 m³ instalados en la piscina para reversión y pre-cría de los peces.



FOTO # 3. Divisiones de los módulos con capacidad 0.5 m³ c/división.



3.2. DISEÑO Y UBICACION DE JAULAS PARA REVERSION QUIMICA DEL SEXO.

Como se realizaron 4 tratamientos y cada tratamiento tuvo 4 réplicas, se utilizó un total de 16 jaulas. Las jaulas fueron confeccionadas con mallas plásticas con ojo de malla de 1/16" (1.5 mm) cuyas dimensiones fueron de (50 x 25 x 50) cm., con área de 0.125 m² estableciendo un volumen de 0.0625 m³. Cada jaula mantuvo en las bordes inferiores pesos (plomos) que permitió mantener a la jaula en su forma normal en el agua. En los bordes superiores sobresalían cordeles que sirvieron de amarre en la armadura externa del corral.

Las jaulas se las colocó en los espacios de cada módulo (ver foto. # 4). Se los sujetó en las esquinas de cada espacio. Como norma de seguridad las jaulas sobresalían 15 cm. de la

ESTADO LIBRE ASOCIADO
DE PUERTO RICO
GOBIERNO

*superficie de la columna de agua y
todas las jaulas estaban provistos de
comederos.*



FOTO # 4. Jaulas para reversión química del sexo instaladas dentro de las divisiones de los corrales.



Material de pescado (200)

Material de plástico (200)

Material de mezcla (200)

Material de hormigón (200)

Material de pintura

**3.3. INGREDIENTES UTILIZADOS EN LA DIETA
PARA REVERSION QUIMICA DEL SEXO
PARA CADA TRATAMIENTO.**

a) *Tratamiento 1 (CONTROL)*

60 mg MT/kg de alimento

<i>Ingredientes</i>	<i>g/kg</i>
<i>Harina de pescado (67%)</i>	<i>500</i>
<i>Harina de pollito (20%)</i>	<i>500</i>
<i>Pre - mezcla zoodry</i>	<i>1</i>
<i>Solución de hormona (*)</i>	<i>10 ml</i>
<i>Alcohol potable</i>	<i>500 ml</i>

b) *Tratamiento 2 (PRUEBA 1)*

30 mg ME/kg de alimento

<i>Ingredientes</i>	<i>g/kg</i>
<i>Harina de pescado (67%)</i>	<i>500</i>
<i>Harina de pollito (20%)</i>	<i>500</i>
<i>Pre - mezcla zoodry</i>	<i>1</i>
<i>Solución de hormona (**)</i>	<i>1 ml</i>
<i>Alcohol potable</i>	<i>500 ml</i>

c) Tratamiento 3 (PRUEBA 2)

60 mg ME/kg de alimento

Ingredientes	g/kg
Harina de pescado (67%)	500
Harina para pollito (20%)	500
Pre - mezcla zoodry	1
Solución de hormona (**)	2 ml
Alcohol potable	500 ml

d) Tratamiento 4 (PRUEBA 3)

90 mg ME/kg de alimento.

Ingredientes	g/kg
Harina de pescado (67%)	500
Harina para pollito (20%)	500
Pre - mezcla zoodry	1
Solución de hormona (**)	3 ml
Alcohol potable	500 ml

(*) 1000 mg de Metil-Testosterona en 100 ml de alcohol potable.

(**) 300 mg de Mesterolona en 10 ml de alcohol potable.

3.4. PREPARACION DEL ALIMENTO PARA REVERSION QUIMICA DEL SEXO.

Para la preparación del alimento se tomó a consideración los requerimientos nutricionales de las post-larvas, a más de poseer la hormona. El alimento tiene dos clases de harinas, con un complejo mineral y vitamínico; Las harinas antes de ser mezcladas deben ser tamizadas en malla de ojo 1 mm², con la finalidad de eliminar impurezas y obtener uniformidad de la partícula alimenticia de acuerdo con el diámetro de la boca del pez.

La solución hormonal se diluyó en alcohol potable.

Procedimiento de preparación del alimento con la hormona:

a) Toda vez tamizado las harinas se mezcló bien con la espátula.

b) Luego de la mezcla, se toma 100 g y se lo mezcla con el complejo vitamínico en forma separada; con el objetivo de ampliar el volumen de acción del complejo vitamínico.

c) Seguidamente se mezcla este complejo vitamínico diluido con el resto de las harinas mezcladas.

d) Adicionar la solución hormonal con los 500 ml de alcohol potable.

e) Posteriormente mezclar la solución hormonal con la mezcla de harinas humedecidas totalmente.

f) Finalmente se deja secar la mezcla, quedando de esta manera impregnada la hormona en el alimento.

3.5. SEGUIMIENTO DE LA TECNICA DE REVERSION QUIMICA DEL SEXO

Para que la reversión química del sexo tenga éxito se considera un factor importante, como es, el tamaño máximo inicial de las post-larvas a reversarse, se establece rangos de 7 y 11 mm de longitud (23); para obtener el tamaño de la "semilla" deseada, se procedió seleccionar las post-larvas cosechadas con un colador con ojo de malla 3/8 ". La "semillas" seleccionadas se mantuvo dentro del rango manifestado; la distribución de la frecuencia de las longitudes se detalla en la Tabla II (ver fig. 4).

Toda vez que se obtuvo las past-larvas seleccionada, se efectuó la transferencia en las jaulas de experimentación, procediendo los trabajos en el siguiente orden: en cada

jaula se fue colocando 100 post-larvas desde la jaula #1 hasta la jaula # 16, luego se colocó 100 post-larvas más en cada una de las jaula y así sucesivamente hasta completar 300 post-larvas en cada jaula.

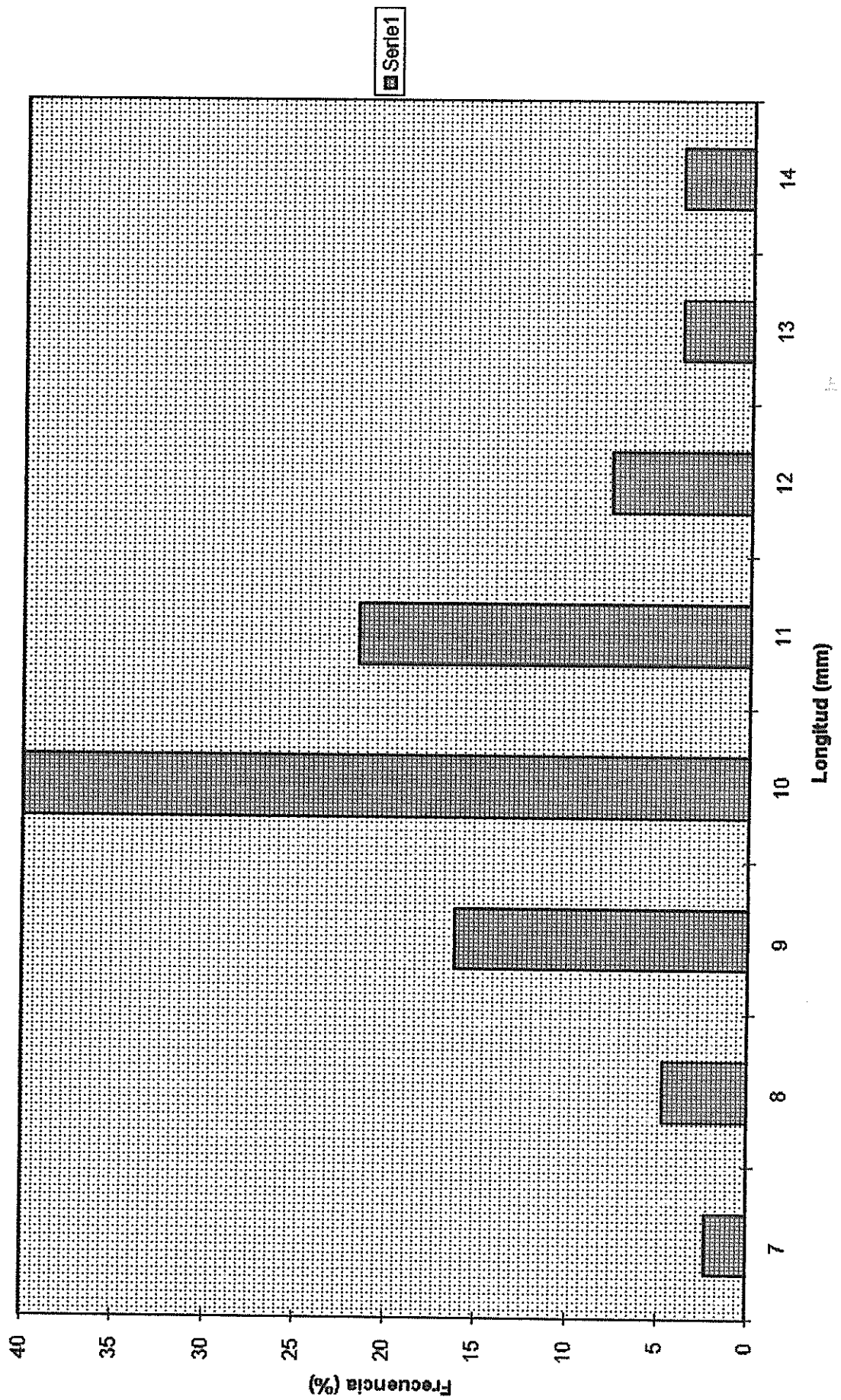
TABLA II
 TABLA DE DISTRIBUCION DE LA
 FRECUENCIA DE LAS LONGITUDES
 DE LA SEMILLA SELECCIONADA

Lt (mm)	recuencia (%)
7	2.31
8	4.62
9	16.15
10	40
11	21.54
12	7.69
13	3.85
14	3.85

n= 130
 x= 10.36
 Ds= 1.395

Datos útiles para determinar si hubo o no crecimiento durante el tratamient

LONGITUD vs, FRECUENCIA DE LAS POS-LARVAS SELECCIONADAS.



Se procedió en el orden manifestado para transferirse en forma homogénea los peces en cada jaula. El total de post-larvas colocadas en las jaulas fue de 4800 post-larvas del híbrido rojo de tilapia, con densidad de transferencia de 2400 "semilla"/m².

Distribuida la "semilla" en las jaulas se inició el proceso de reversión química del sexo.

Durante los 28 días que duró la reversión, los peces fueron alimentados en base a la "tabla de alimentación para reversión química del sexo" (ver tabla III). Transcurridos 15 días, se efectuó el reajuste de la tabla de alimentación; estableciendo nueva ración alimenticia (ver tabla IV).

Durante el desarrollo de las investigaciones no se produjo ningún problema en lo que respecta a la alimentación.

TABLA III

CRECIMIENTO Y ALIMENTACIÓN PARA
REVERSIÓN QUÍMICA DEL SEXO DE TILAPIA NILOTICA

DIA	Lt (mm)	Peso (g)	T. Aliment.	gr/día 1000/alevin.	ACUMULADO gr/1000
1	8	6,1	20	1,2	1,2
2	8,3	6,9	20	1,4	3
3	8,6	7,7	20	1,5	4
4	8,9	8,6	20	1,7	6
5	9,2	9,6	20	1,9	8
6	9,5	10,6	20	2,1	10
7	9,8	11,8	20	2,4	12
8	10,1	13	20	2,6	15
9	10,4	14,3	20	2,9	18
10	10,7	15,6	20	3,1	21
11	11	17,1	20	3,4	24
12	11,3	18,6	20	3,7	28
13	11,6	20,3	20	4,1	32
14	11,9	22	20	4,4	36
15	12,2	23,9	20	4,8	41
16	12,5	25,8	20	5,2	46
17	13	29,3	20	5,9	52
18	13,5	33,1	20	6,6	59
19	14	37,3	20	7,5	66
20	14,5	41,7	20	8,3	75
21	15	46,6	20	9,3	84
22	15,5	51,8	20	10,4	94
23	16	57,4	20	11,5	106
24	16,8	67,1	19	12,8	119
25	17,6	78	18	14,0	133
26	18,4	90,1	17	15,3	148
27	19,2	103,3	16	16,5	164
28	20	117,9	15	17,7	182
29	20,8	133,8	14	18,7	201
30	21,6	151,2	13	19,7	221
31	22,4	170	12	20,1	241
32	23,2	190,4	11	20,9	262
33	24	212,5	10	21,2	283
34	24,8	236,2	10	23,6	307
35	25,6	261,7	10	26,2	333
36	26,4	289,1	10	28,9	362

Estación Piscícola "El Chame". Semilla enjaulada en
estanque abierto a densidad de 4000 alevines/m²

$$\text{Peso (g/1000)} = \text{Lt(mm)}^3 \cdot 3.23 = 0.0074$$

Tabla IV

TABLA DE AJUSTE DE ALIMENTACIÓN (g) DE LOS ALEVINES EN PROCESO DE REVERSIÓN

DIA	CONTROL MT 60 JAULAS (4)	TRATAM. 1 ME 30 JAULAS (4)	TRATAM. 2 ME 60 JAULAS (4)	TRATAM. 3 ME 90 JAULAS (4)	ACUMULADO JAULAS (16)
1	0.78	0.78	0.78	0.78	13
2	0.87	0.87	0.87	0.87	27
3	0.93	0.93	0.93	0.93	42
4	1.02	1.02	1.02	1.02	58
5	1.11	1.11	1.11	1.11	76
6	1.23	1.23	1.23	1.23	96
7	1.32	1.32	1.32	1.32	117
8	1.44	1.44	1.44	1.44	140
9	1.65	1.65	1.65	1.65	166
10	1.77	1.77	1.77	1.77	194
11	1.98	1.98	1.98	1.98	226
12	2.25	2.25	2.25	2.25	262
13	2.49	2.49	2.49	2.49	302
14	2.79	2.79	2.79	2.79	347
15	5.31	5.31	5.31	5.31	432
16	5.61	5.61	5.61	5.61	522
17	5.91	5.91	5.91	5.91	617
18	6.03	6.03	6.03	6.03	714
19	6.27	6.27	6.27	6.27	720
20	6.36	6.36	6.36	6.36	822
21	7.08	7.08	7.08	7.08	935
22	7.86	7.86	7.86	7.86	1061
23	8.67	8.67	8.67	8.67	1200
24	9.24	9.24	9.24	9.24	1348
25	10.47	10.47	10.47	10.47	1516
26	11.64	11.64	11.64	11.64	1703
27	13.68	13.68	13.68	13.68	1922
28	14.41	14.41	14.41	14.41	2153

3.6. ANALISIS DE DATOS PRELIMINARES OBTENIDOS DE LOS PECES REVERSADOS.

Finalizando los trabajos de reversión química del sexo se obtuvo una sobrevivencia media de todos los grupos del 82.29% . Una longitud final de 33.5 mm (ver tabla V).

Según las variaciones de longitudes obtenidas para cada grupo podría pensarse que fué debido a las diferentes concentraciones hormonales de cada tratamiento, pero en este caso el tamaño esta relacionado con la densidad final de cada jaula (ver Tablas VI; VII; VIII; IX).

Para determinar si hubo crecimiento significativo se procedió a realizar un análisis de medias de las longitudes entre el inicio de las reversión hasta el final del proceso (tomando como patron el control).

TABLA V

TABLA DE SEGUIMIENTO DE LAS POST-LARVAS EN REVERSION

MÓDULOS	JAULAS	FECHA DE SIEMBRA	FECHA DE COSECHA	No. ALEV. SEMBRADOS	LONGITUD INICIAL (mm)	LONGITUD FINAL (mm)	SOBREV. (%)
A	A1	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	35,10	64,00
	A2	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	32,10	88,00
	A3	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	36,10	77,00
	A4	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	41,30	32,00
B	B1	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	34,00	89,00
	B2	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	32,00	93,00
	B3	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	32,40	96,60
	B4	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	34,80	84,60
C	C1	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	33,00	76,30
	C2	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	31,30	88,60
	C3	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	29,10	97,00
	C4	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	35,00	85,60
D	D1	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	33,90	87,00
	D2	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	29,70	82,00
	D3	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	32,30	88,00
	D4	FEB./07/95	MARZ./08/95	300	10,315	33,90	88,00
PROMEDIO =					10,315	33,50	82,29

Para realizar el análisis entre las dos poblaciones (antes y después de la reversión) se tomaron los siguientes datos:

INICIO	FINAL
$n = 130$	$n = 40$
$DS = 1.9516$	$DS = 4.20745$
$x = 10.32$	$x = 34.0$

$$Z_c = (0.05) = + - 2.85$$

$$DS = (DS^2/n + DS^2/n)^{1/2}$$

$$DS = 0.4576$$

$$Z = (10.32 - 34.0)/0.4576 = - 51.748$$

Esto indica que existió una diferencia significativa, demostrándose de que si hubo crecimiento. (ver figura # 5).

TABLA VI
 TABLA DE FRECUENCIA DE LAS LONGITUDES
 DEL CONTROL

Lt (mm)	frec. (%)
27	2,5
28	5
30	17,5
31	10
32	15
34	5
35	5
36	12,5
37	10
38	2,5
39	5
40	2,5
41	2,5
44	5

REPLICA	1	2	3	4	TOTAL
n	10	10	10	10	40
x	35,1	34	33	33,9	34
DS	4,6296	4,346	2,4495	5,4047	4,20745
S%	58,6	80,3	69,6	80	72,125
N	176	241	209	240	

n- Número muestreado de peces
 x- Promedio de longitudes
 DS- Desviación típica
 S %- Porcentaje de sobrevivencia
 N- Número cosechado

LONGITUD vs. FRECUENCIA DE LA "SEMILLA" ANTES Y DESPUES DE LA REVERSION

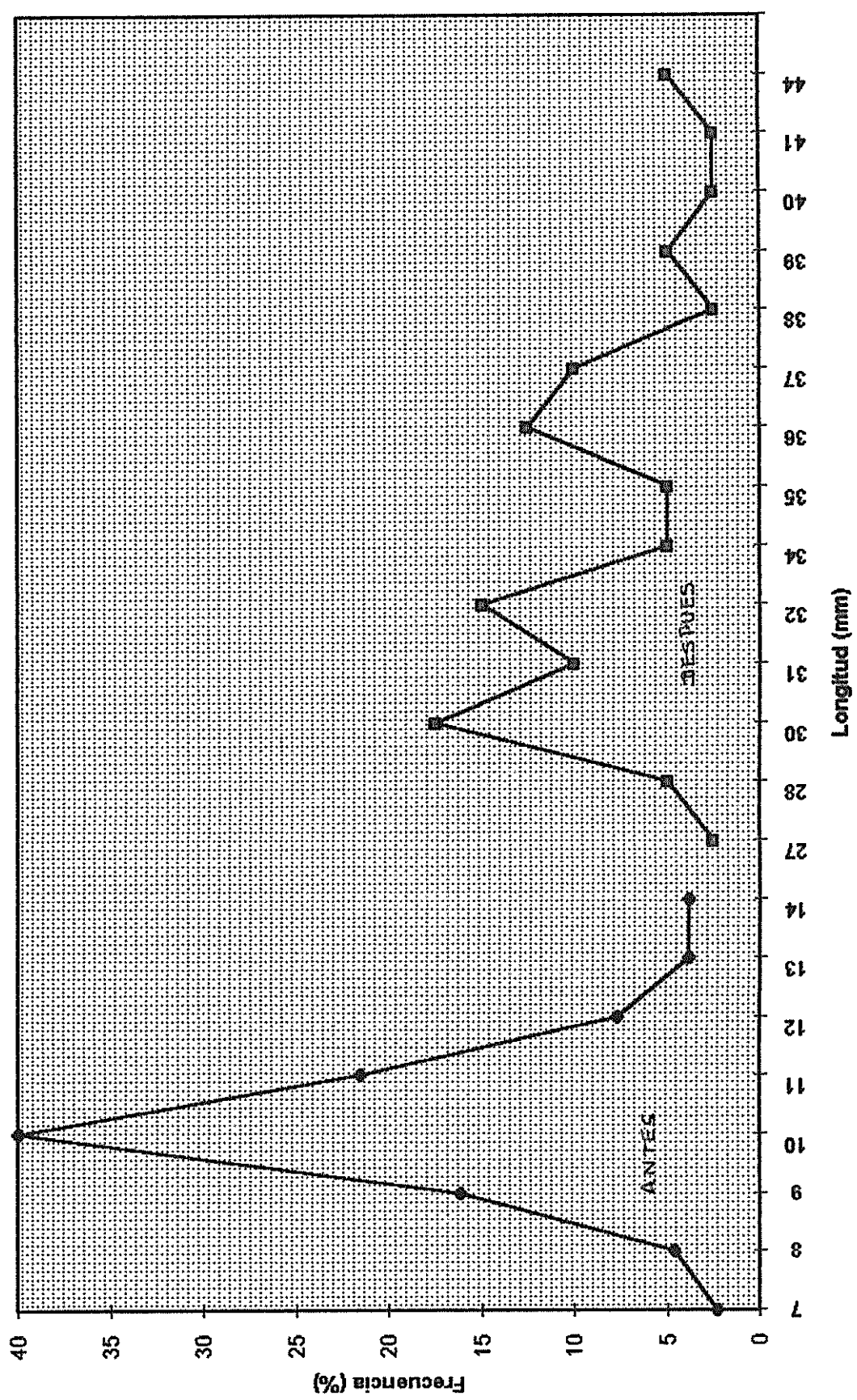


figura # 6

TABLA VII
 TABLA DE FRECUENCIA DE LONGITUDES
 DE LA PRUEBA 1

Lt (mm)	Frec. (%)
19	2.5
22	2.5
24	2.5
25	5
26	5
27	5
28	7.5
29	5
30	15
31	2.5
32	10
33	5
34	10
36	2.5
37	12.5
39	2.5
40	2.5
44	2.5

REPLICA	1	2	3	4	TOTAL
n	10	10	10	10	40
x	32.1	32.3	31.3	29.7	31.35
DS	3.0714	6.4644	5.3965	5.55378	5.3901
S%	82.6	79.3	83.3	74.3	79.875
N	248	238	250	223	

n- Número muestreado de peces
 x- Promedio de longitudes
 DS- Desviación típica
 S %- Porcentaje de sobrevivencia
 N- Número cosechado

TABLA VIII
 TABLA DE FRECUENCIA DE LAS LONGITUDES DE
 LA PRUEBA 2

Lt (mm)	Frec. (%)
20	5
23	2,5
24	2,5
25	5
26	7,5
27	7,5
29	2,5
30	10
31	15
32	5
34	5
35	12,5
36	2,5
37	2,5
38	2,5
39	2,5
40	2,5
41	2,5
45	5

REPLICA	1	2	3	4	TOTAL
n	10	10	10	10	40
x	32,1	32,4	29,1	32,3	31,475
DS	6,7896	4,3256	5,065	7,4988	5,9197
S%	73	85,6	90,3	81	82,47
N	219	257	271	243	

n= Número muestreado de peces
 x= Promedio de longitudes
 DS= Desviación típica
 S %= Porcentaje de sobrevivencia
 N= Número cosechado

TABLA IX
 TABLA DE FRECUENCIAS DE LAS LONGITUDES DE
 LA PRUEBA 3

Lt (mm)	Frec. (%)
27	2,5
28	5
30	7,5
31	7,5
32	7,5
33	5
34	7,5
35	10
36	5
37	2,5
38	10
39	2,5
40	7,5
41	5
42	2,5
43	5
47	2,5
50	5

REPLICA	1	2	3	4	TOTAL
n	10	10	10	10	40
x	41,3	44,8	34,7	33,9	36,18
DS	6,0378	4,077	5,2079	4,3063	4,90725
S%	28,6	74,6	79,6	81,3	66,025
N	86	224	239	244	

n= Número muestreado de peces
 x= Promedio de longitudes
 DS= Desviación típica
 S %= Porcentaje de sobrevivencia
 N= Número cosechado

Para determinar si existió diferencias significativas entre las medias de las longitudes, se procedió a realizar un análisis de varianza de los datos conocidos y establecer si la reversión dependen exclusivamente de las concentraciones hormonales proporcionada en las dietas. (ver tabla X), (ver fig. 6; 7; 8).

TABLA X
TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA DE LA MEDIA DE LONGITUDES

OBSERVACIONES	CONTROL MT-60 Lt (mm)	PRUEBA 1 ME-30 Lt (mm)	PRUEBA 2 ME-60 Lt (mm)	PRUEBA 3 ME-90 Lt 9mm)
1	35,1	32,1	32,1	41,3
2	34	32,3	32,4	34,8
3	33	31,3	29,1	34,7
4	33,9	39,7	32,3	33,9

x	34	31,35	31,475	36,175
SUM (x)	136	125,4	125,9	144,7
SUM (X)2	4626,22	3935,48	3970,27	5270,03
DS	0,8602	1,1818	1,58824	3,4403
n	4	4	4	4

- A) GRAN TOTAL = Sum(Sum X) = 532
 b) Suma de los cuadrados = Sum(Sum X2) = 17802
 c) Sum(X)2 = 17752,51
 d) TC = (SUM(SUMX)2/SUMn) = 17689
 e) SS TOTAL = SUM(SUM X)2 - TC = 113
 f) SS grupos = SUM(SUM X)2/n - TC = 63,51
 g) SS dentro = SS total - SS grupos = 49,49

TABLA DE ANOVA

	gl	SS	MS	FC	F1
X -x (entre grupo)	3	63,51	21,17	5,133	5,95
X -x (dentro Grupo)	12	49,49	4,124		
X - x Total	15				

HIPÓTESIS

- H₀ = No existe diferencia significativa entre las de longitudes
 H₁ = Si existe diferencia significativa entre las las longitudes

$$F(0.01)[5.95] > F5.133$$

Según los datos analizados, no existió diferencia significativa a un nivel (P = 0.01) entre las medias de sus longitudes al final de los grupos tratados, por lo que la eficiencia de reversión sera dependiente de las concentraciones de la droga utilizada.

LONGITUD vs FRECUENCIA DE LOS ALEVINES REVERSADOS ENTRE EL CONTROL Y PRUEBA 1

PRUEBA 1

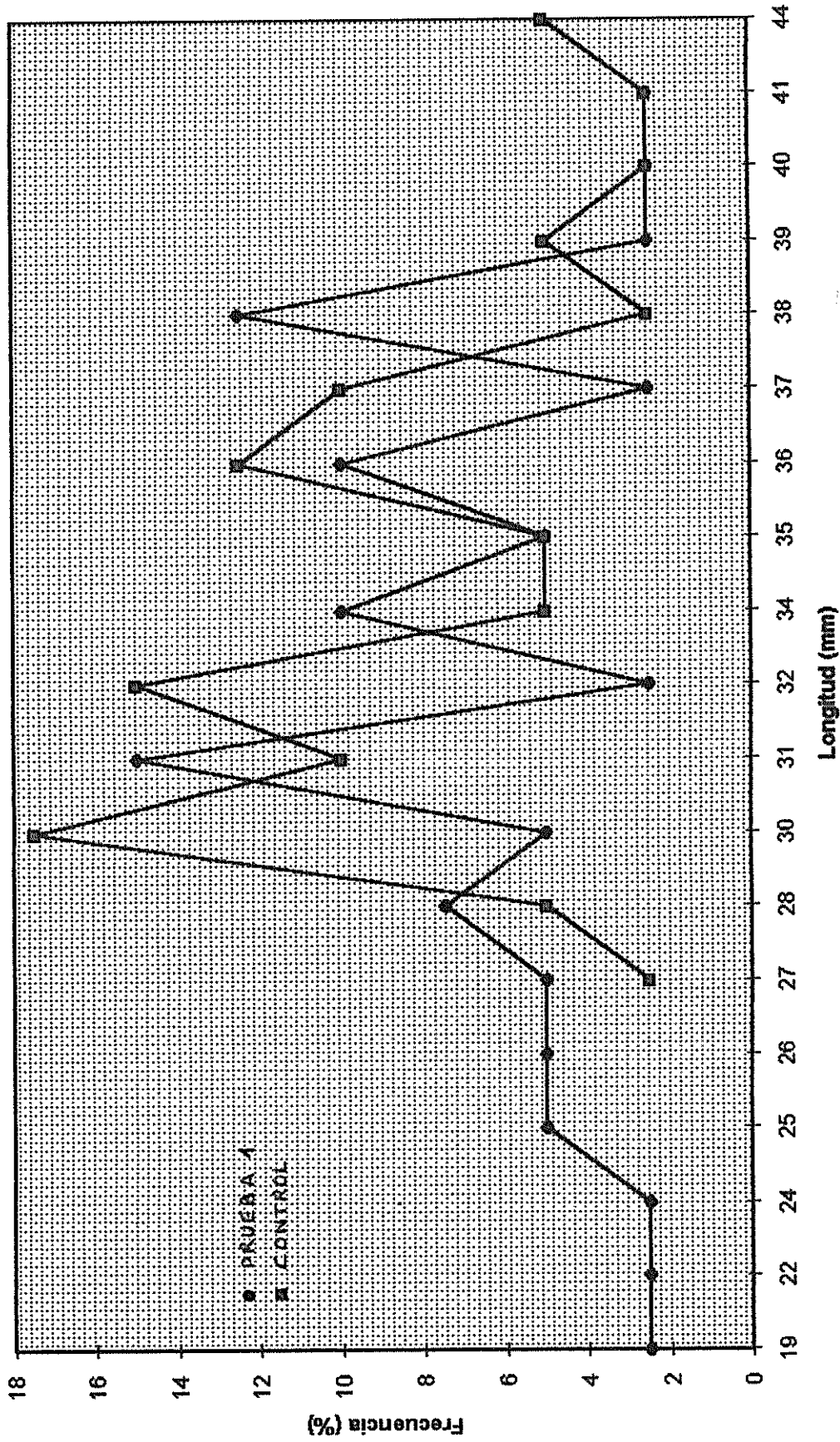


Figura # 7

LONGITUD vs. FRECUENCIA ENTRE EL CONTROL Y PRUEBA 2

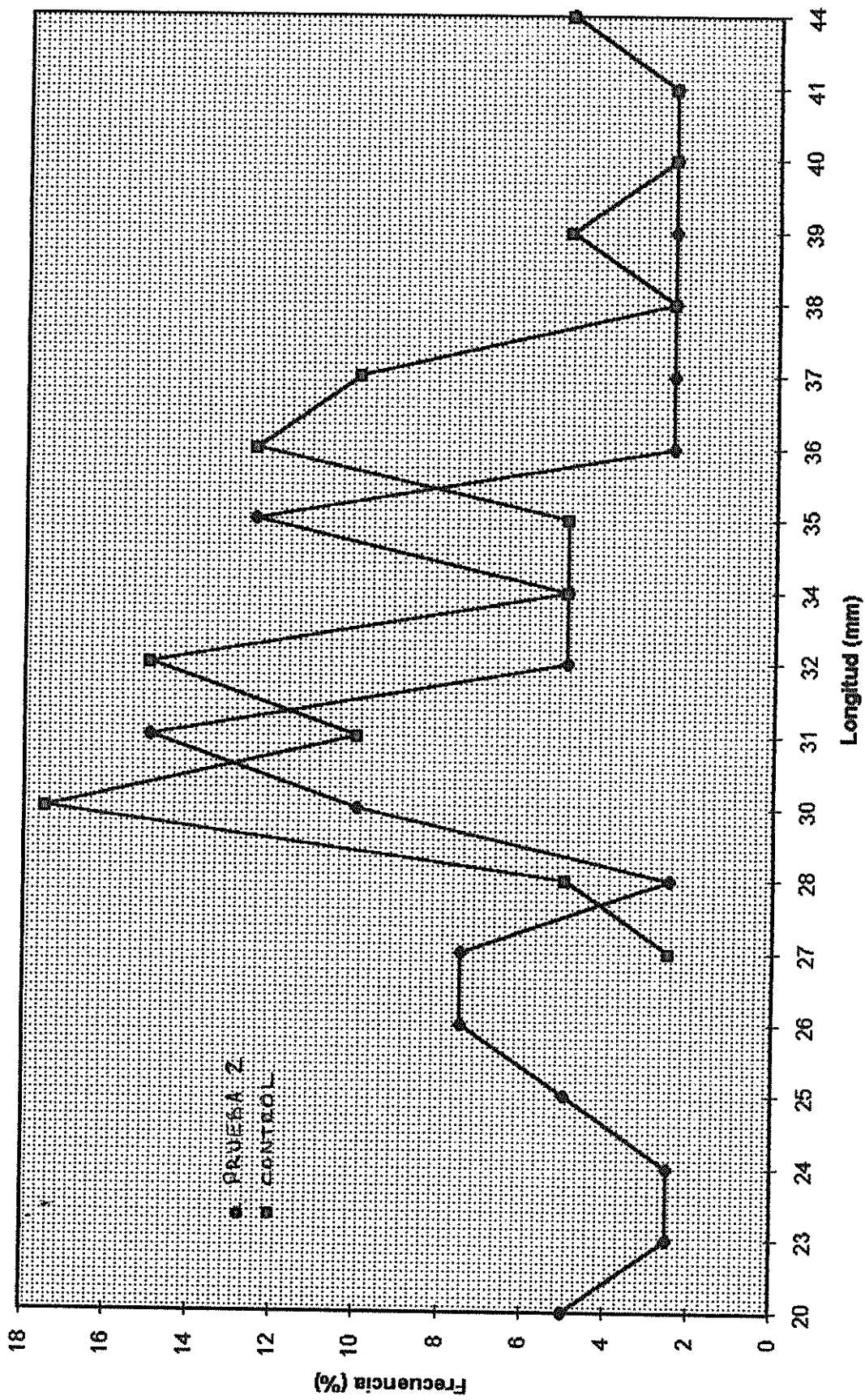


Figura # 8

LONGITUD vs. FRECUENCIA ENTRE EL CONTROL Y PRUEBA 3

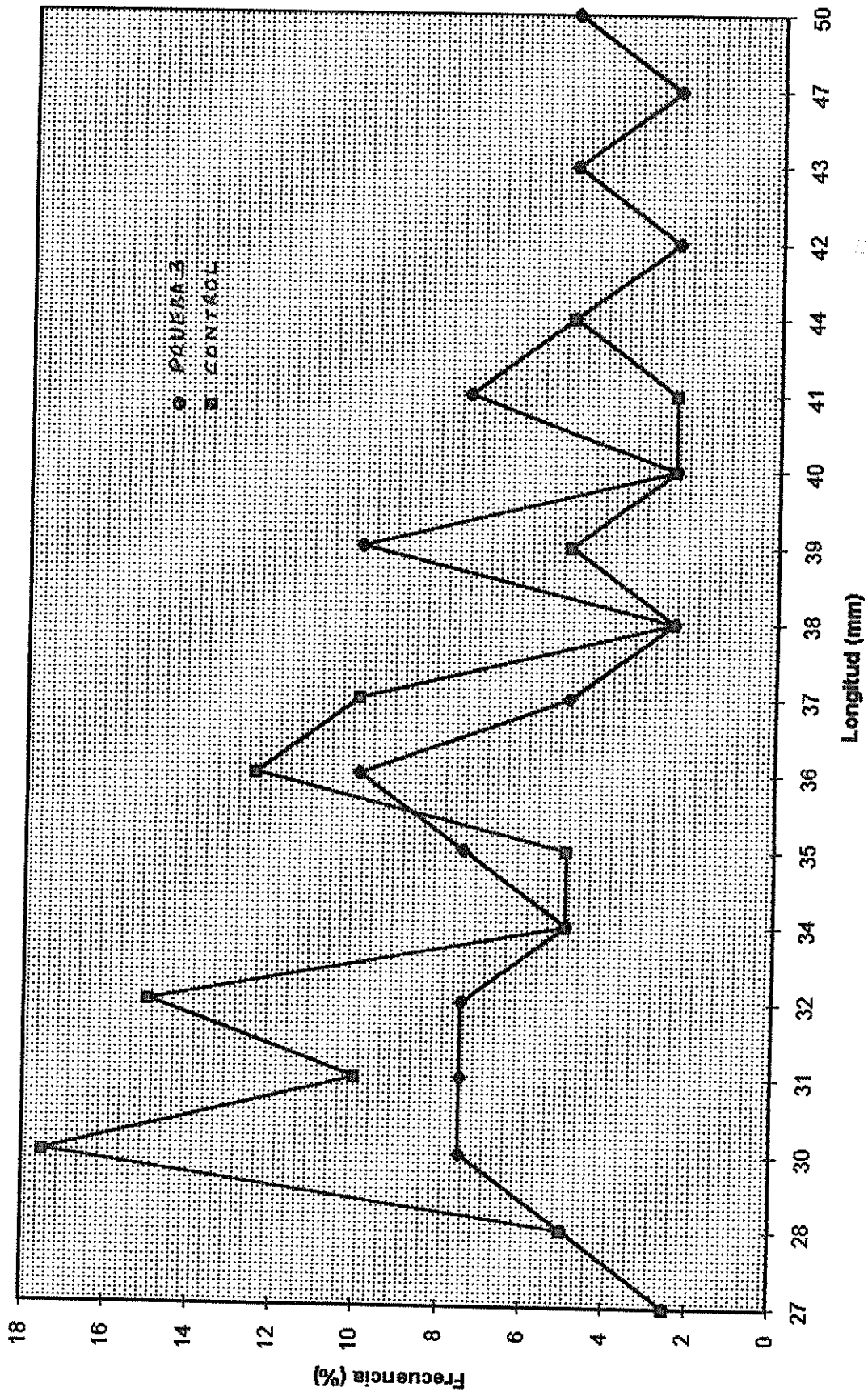


Figura # 9



3.7. SEGUIMIENTO DE LA PRECRÍA DE LOS PECES REVERSADOS

Finalizada la fase de reversión química del sexo los alevines, se transfirieron a los peces en los espacios de los módulos (corrales) para el seguimiento de la pre-cría de los peces reversados.

Permanecieron en fase de pre-cría por 55 días hasta alcanzar una longitud promedio de 74.84 mm con una desviación estandar de 5.224 (ver tabla X).

Durante la fase de pre-cría los alevines no presentaron problemas relacionados con: alimento, parámetro físico, químico y biológico. Los alevines fueron alimentados con balanceados extrusados para tilapia de 35% de proteína.

TABLA XI

TABLA DE SEGUIMIENTO DE LOS ALEVINES REVERSADOS

MÓDULOS	JAULAS	FECHA DE SIEMERA	FECHA DE COSECHA	No. ALEV. SEMBRADOS	LONGITUD INICIAL (mm)	LONGITUD FINAL (MM)	SOBREV. (%)
A	A1	MARZ./08/95	ABR./29/95	191	35,10	77,70	90,30
	A2	MARZ./08/95	ABR./29/95	265	32,10	73,00	68,90
	A3	MARZ./08/95	ABR./29/95	232	36,10	71,60	91,70
	A4	MARZ./08/95	ABR./29/95	96	41,30	91,30	98,80
B	B1	MARZ./08/95	ABR./29/95	267	34,00	75,00	78,40
	B2	MARZ./08/95	ABR./29/95	280	32,00	71,50	77,70
	B3	MARZ./08/95	ABR./29/95	290	32,40	74,00	54,08
	B4	MARZ./08/95	ABR./29/95	254	43,80	74,80	55,80
C	C1	MARZ./08/95	ABR./29/95	229	33,00	77,66	77,90
	C2	MARZ./08/95	ABR./29/95	266	31,30	73,40	71,60
	C3	MARZ./08/95	ABR./29/95	291	29,10	72,00	68,60
	C4	MARZ./08/95	ABR./29/95	257	35,00	72,80	90,30
D	D1	MARZ./08/95	ABR./29/95	260	33,90	-	-
	D2	MARZ./08/95	ABR./29/95	246	29,70	-	-
	D3	MARZ./08/95	ABR./29/95	263	32,30	72,40	71,20
	D4	MARZ./08/95	ABR./29/95	264	33,90	70,66	69,26
				PROMEDIO	33,50	74,84	75,91



CAPITULO IV RESULTADO Y EVALUACION DEL ENSAYO

4.1. CAPTURA DE LOS JUVENILES REVERSADOS.

Cumplidos los 55 días de la fase de precría, la mayoría de los peces llegaron a un tamaño fácilmente sexable (>7 cm)., se procedió a la captura y se determinó la sobrevivencias de los peces, obteniéndose los siguientes datos: (ver tabla XI).

4.2. OBSERVACIONES MICROSCOPICAS DEL SEXO DE LOS PECES.

Para realizar estos trabajos se empieza con la preparación del colorante.

Ingredientes:	Cantidad
- Acido acético al 45%	100ml
- Rojo carmin .	0,5 g
- Papel filtro.	1
- Frasco limpio.	1

Se agrega 0.5 g de rojo-carmin en 100ml de ácido acético al 45%; hervir por espacio de 2 a 4 minutos; enfriar la solución, posteriormente filtrarlas y retener las moléculas de mayor volumen.

Se realizó medición de los peces, con ictiómetro de precisión y colocadas en orden ascendente en relación a su longitud.

A continuación se realizó la extracción de las gónodas, localizadas entre las vísceras y la vejiga gaseosa. Las gónodas se las colocó en placas para su respectiva tinción, dejando actuar por cinco minutos el colorante de rojo carmin (ver foto. # 5); posteriormente se colocó el cubre objeto en la placa para su correspondiente observación microscópica. El colorante es rápidamente absorbido por el tejido gonadal.

Según el análisis microscópico, el tejido ovárico de la hembra es identificado por la presencia de "oocitos", (ver foto. # 7-10) con núcleos ligeramente teñidos por el colorante y rodeados de un citoplasma mas oscuro. El tejido testicular, es difícil de identificar por la presencia de un tejido circundante y grumoso (ver foto. # 8-11). Durante las observaciones se registraron los ovotestes las cuales son considerados estériles (ver foto. # 9-12).

4.3. ANALISIS ESTADISTICOS.

Según los análisis obtenidos con los 4 tratamientos y sus respectivas réplicas (ver tabla XIII) se procedió a realizar una evaluación estadística de la diferencia entre réplicas, se estableció la variación del error promedial en cada uno de los tratamientos. (ver tabla XIV).

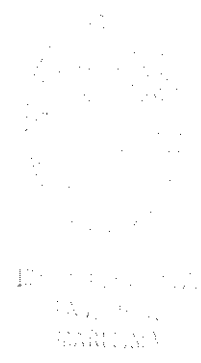


TABLA XII
TABLA DE COSECHA DE JUVENILES REVERSADOS

	CONTROL MT-60	PRUEBA 1 ME-30	PRUEBA 2 ME-60	PRUEBA 3 ME-90
No. REPLICAS	3	3	4	4
No. PEC. COSECH.	511	535	699	586
SOBREVIVENCIA (%)	81,63	72,79	70,6	73,89

TIEMPO DE CULTIVO EN PRECRIA (55 DIAS)

TABLA XIII

TABLA DE PORCENTAJE DE MACHOS OBTENIDOS EN CADA TRATAMIENTO CON SUS RESPECTIVAS RÉPLICAS

RÉPLICA	CONTROL MT-60 % (MACHOS)	PRUEBA 1 ME-30 %(MACHOS)	PRUEBA 2 ME-60 %(MACHOS)	PRUEBA 3 ME-90 %(MACHOS)
1	95,74	74,99	89,88	92,57
2	96,1	72	87,7	95
3	97,5	74,6	90,5	94
4	*	*	82,94	96,7
x	96,45	73,86	87,76	94,4
SD	0,9298	1,6254	3,4272	1,4638

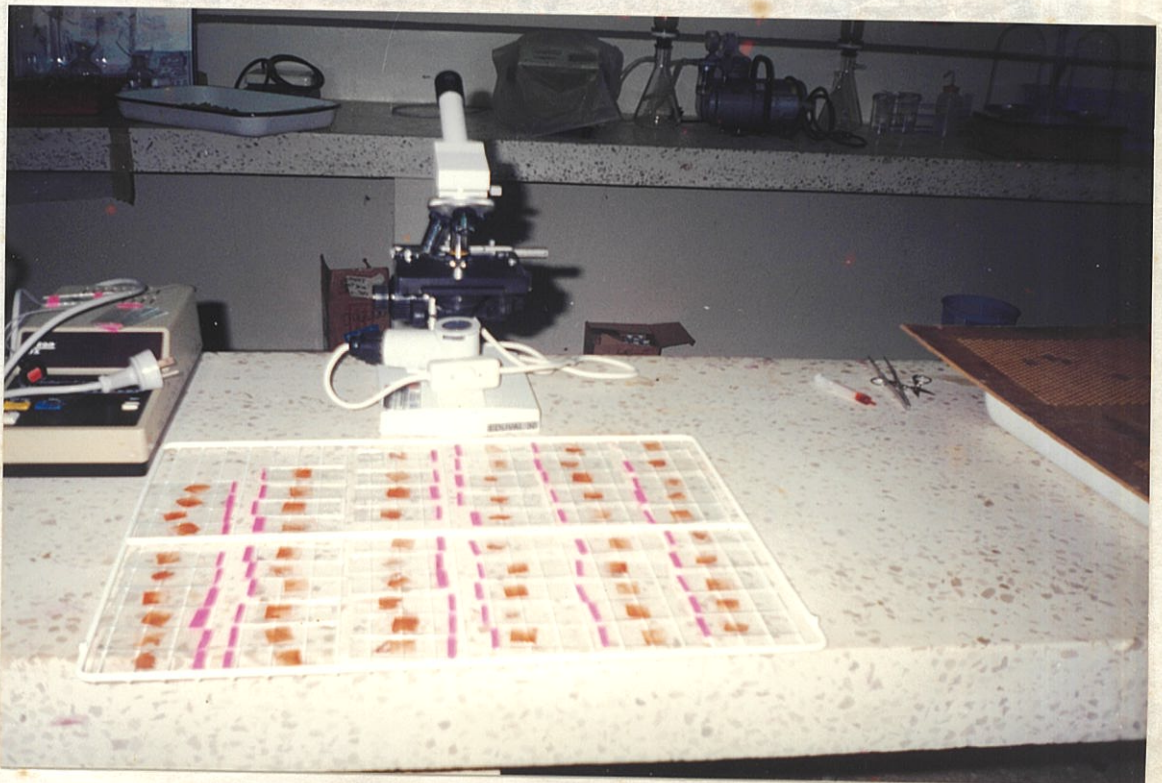
TABLA XIV
RANGO PROMEDIAL DE MACHOS DE CADA TRATAMIENTO

	CONTROL MT - 60	PRUEBA 1 ME - 30	PRUEBA 2 ME - 60	PRUEBA 3 ME - 90
RANGO (%)	94.94-97.96	71.22-76.47	82.94-92.67	92.34-96.46



BIBLIOTECA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

FOTO # 5. Placas preparadas para la observación microscópica de las gónodas.





BIBLIOTECA
FAC. ING. 84
MARITIMA

FOTO # 6. Observación microscópica de las gonodas femeninas.

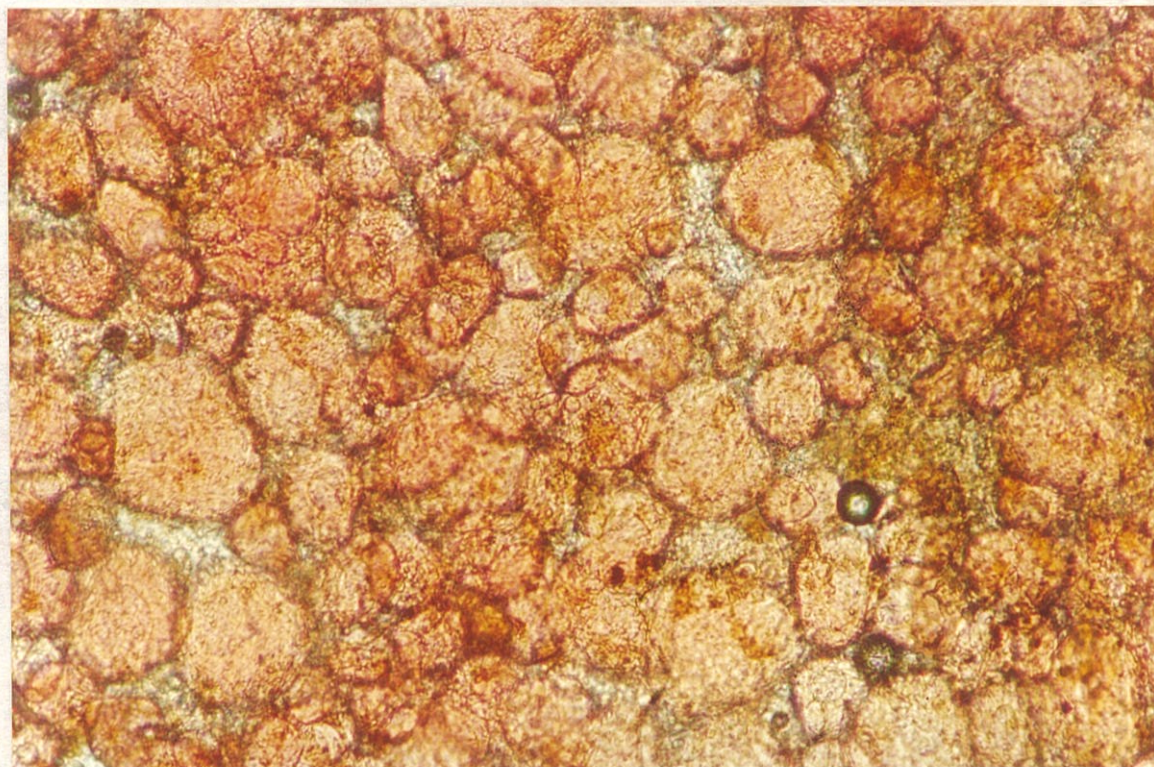
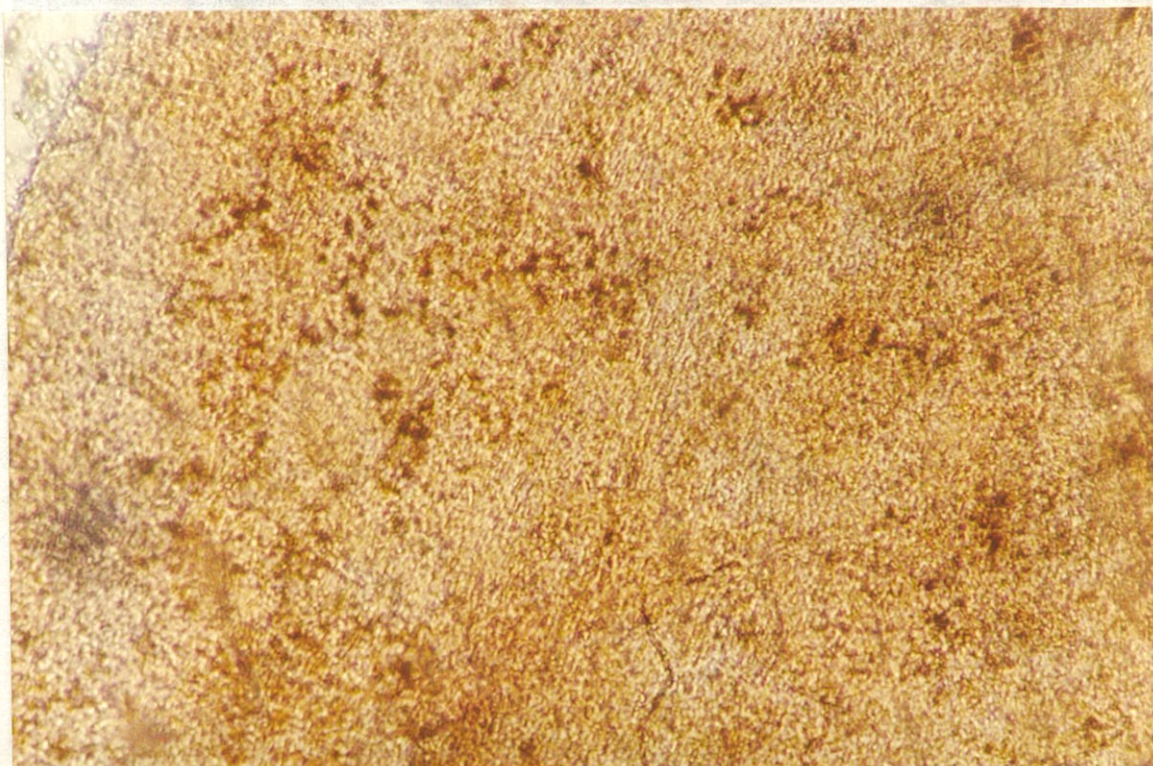


FOTO # 7. Observación microscópica de las gónodas masculinas.





BIBLIOTECA 85
FAC. ING.
MARITIMA

FOTO # 8. Observación microscópica de ovotestes.

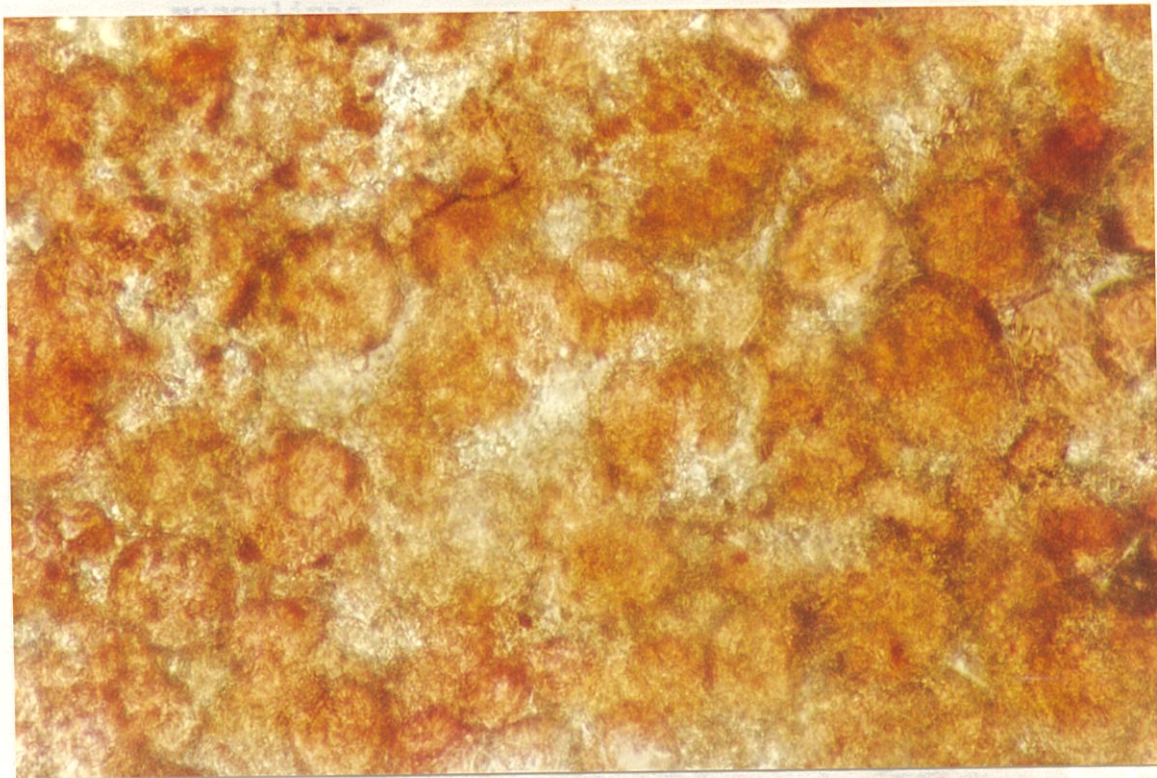
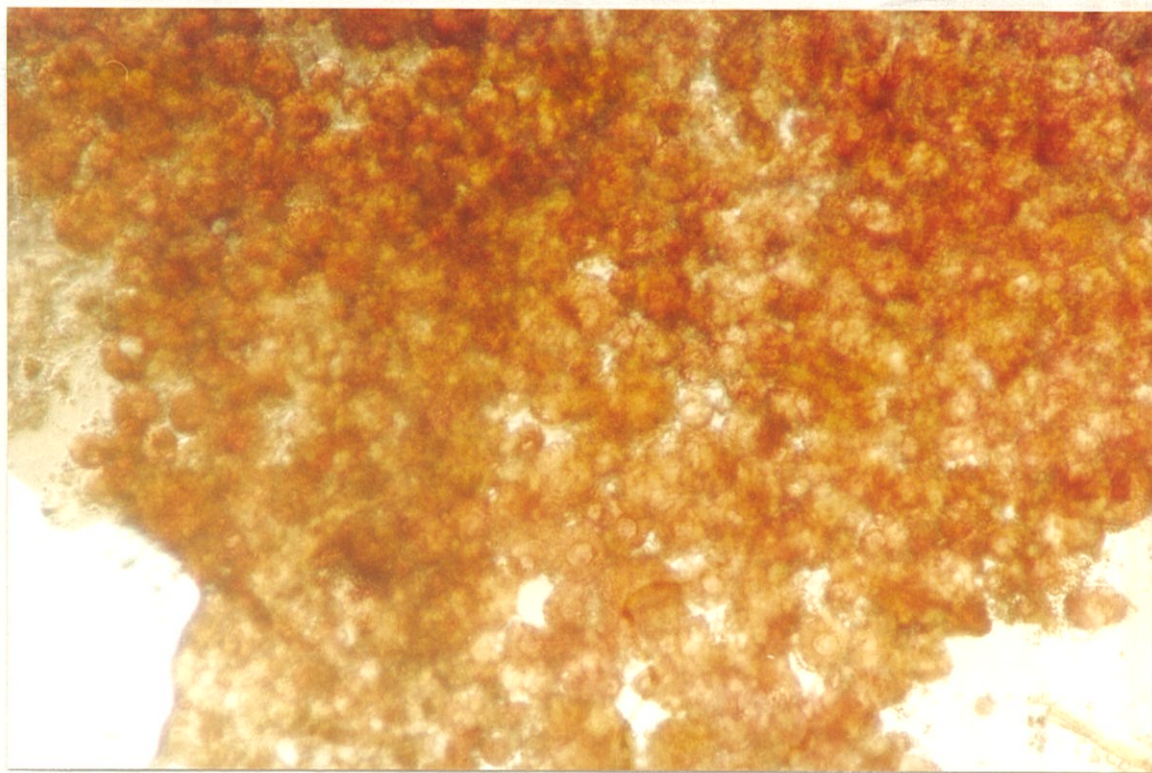


FOTO # 9. Observación microscópica de las gonodas femeninas.





86
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

FOTO # 10. Observación microscópica de las gónodas masculinas.

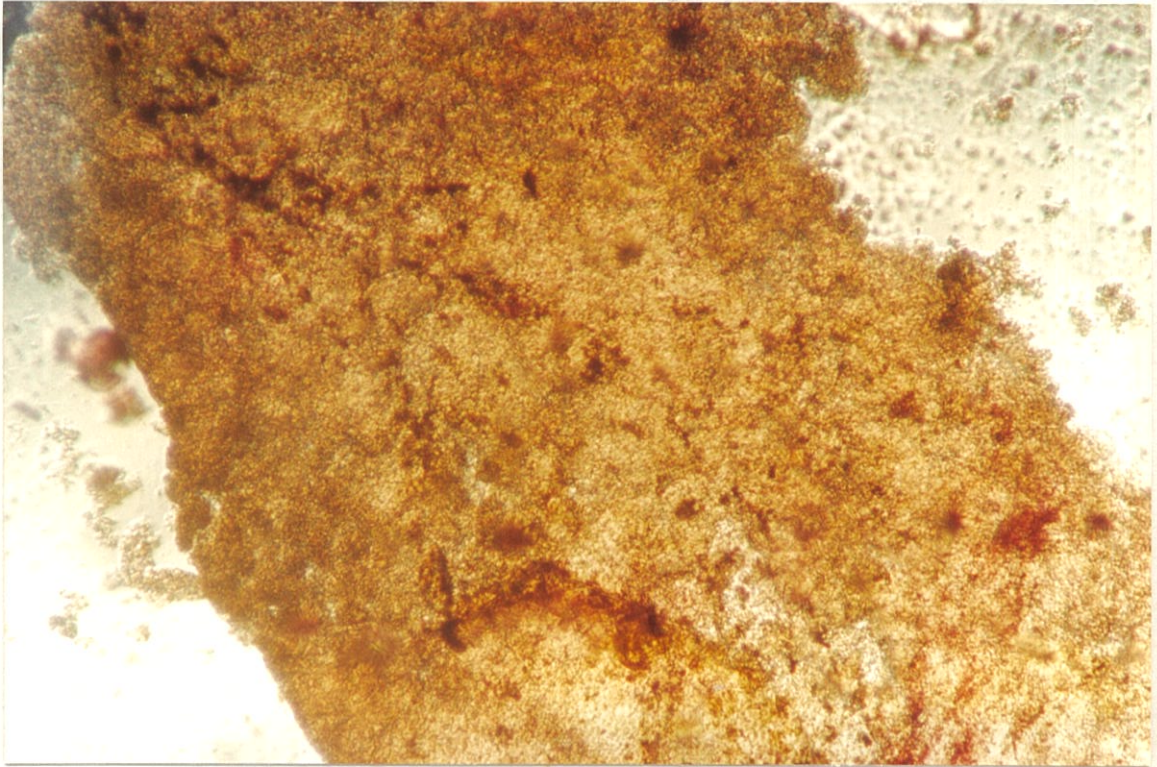
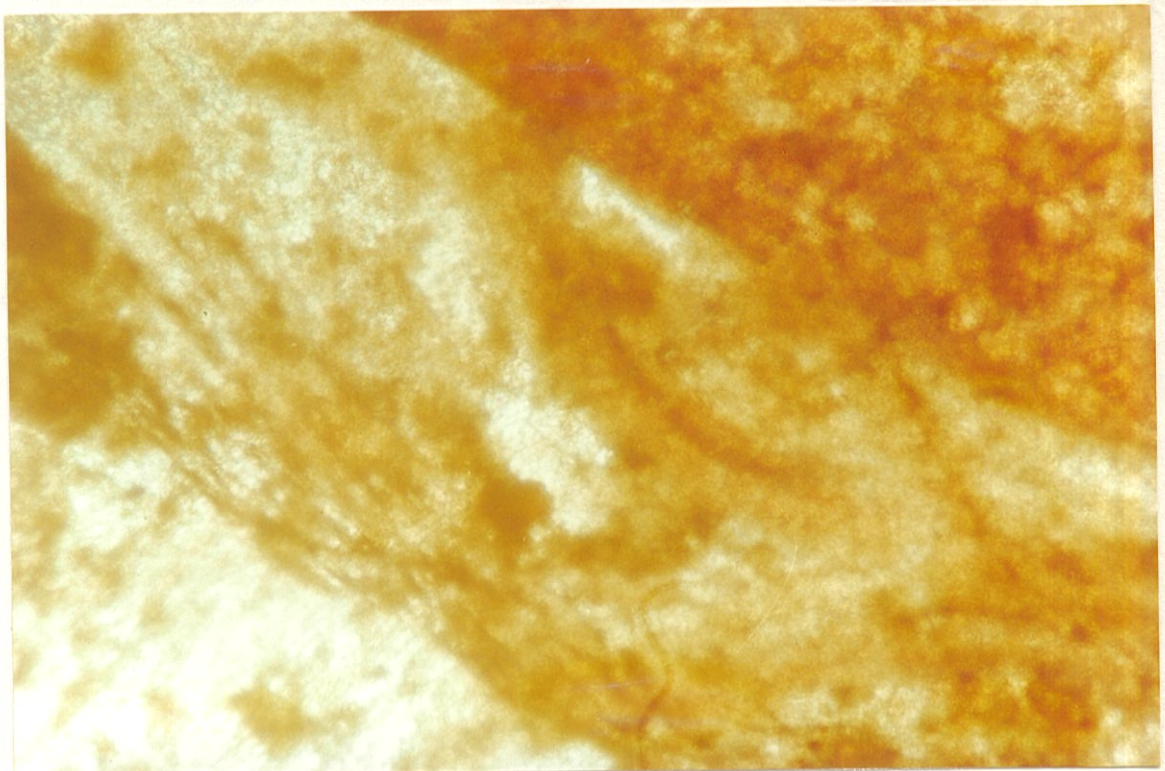


FOTO # 11. Observación microscópica de ovotestes.





Posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANOVA), donde se indica si es significativo o no la diferencia entre los porcentajes de machos obtenidos de los diferentes concentraciones hormonales.

TABLA XV

TABLA Y DATOS DE ANOVA

RÉPLICA	CONTROL	PRUEBA 1	PRUEBA 2	PRUEBA 3
	MT-60 %(MACHOS)	ME-30 %(MACHOS)	ME-60 %(MACHOS)	ME-90 %(MACHOS)
1	95.74	74.99	89.88	92.57
2	96.1	72	87.7	95
3	97.5	74.6	90.5	94
4	*	*	82.94	96.7

x	96.45	73.86	87.76	94.4
SUM(X)	289.34	221.59	351.02	377.57
SUM(X ²)	27907.61	16372.66	30838.99	35646.21
DS	0.9298	1.6254	3.4292	1.4639

- a) Gran Total - 1239.52
- b) Suma de los cuadrados de las observaciones - 110765.47
- c) Suma de los cuadrados de los totales grupos, cada uno dividido por el tamaño de la muestra - 110716.79
- d) $TC = \frac{(\sum x)^2}{n}$ - 109743.56
- e) $SS \text{ total} = \sum x^2 - TC$ - 1021.9
- f) $SS \text{ grupos} = \sum (\frac{x^2}{n}) - TC$ - 973.18
- e) $SS \text{ dentro} = SS \text{ total} - SS \text{ Grupos}$ - 48.67

	gl	SS	MS	FC
- x entre grup	3	973.18	324.39	66.07
-x dentro grup	10	48.67	4.867	
X - x Total	13	1021.85		

HIPÓTESIS

Ho. No existe diferencia significativa entre las medias de las poblaciones de machos. MT-60 = ME-30 = ME-60 = ME-90

H1. Si hay diferencia significativa entre las medias poblacionales de machos

FC= as "entre" grupos/SS "dentro" grupos: 66.07

F(0.05) [3.71]= 66.07

Si hay diferencia significativa a un nivel (P = 0.05) (se rechaza la hipótesis nula).

Como existe diferencia significativa el paso siguiente consiste en investigar donde se encuentra la diferencia o las diferencias.

PRUEBA DEL RANGO MULTIPLE DE DUNCAN

1.- Calculamos una estimación de error estándar de la media, utilizando la media de los cuadrados del residuo (MS). Utilizamos la siguiente fórmula:

$$S_x = \sqrt{MSCE/n_j}$$

MSCE = La media de los cuadrados del residuo.

n = número total de réplicas de cada tratamiento.

$$S_x = 1.19$$

2.- Acudimos a la tabla de Porcentiles de Rangos Studentizados - Valores de 0,05 (DUNCAN) a 10 grados de libertad, obteniendo los siguientes rangos.

$$\begin{array}{ccc} K = & 2 & 3 & 4 \\ q = & 3.15 & 3.88 & 4.33 \end{array}$$

3.- A continuación, los rangos se los multiplica con el valor del error estándar calculado, formandose la siguiente tabla:

K	2	3	4
q	3.15	3.88	4.33
q*Sx	3.75	4.62	5.15

4.- El siguiente paso es presentar los cuatro medias de tratamientos en orden ascendente.

Prueba 1 (30-ME) A	Prueba 2 (60-ME) B	Prueba 3 (90-ME) C	Control (60-MT) D
73,86	87,76	94,4	96,45

5.- Realizar las comparaciones para ver donde se encuentran las diferencias.

A - B	13.39 > 3.75*
A - C	20.54 > 4.62*
A - D	22.59 > 5.15*
B - C	6.64 > 3.75*
D - B	8.64 > 4.62*
D - C	2.05 < 3.75 NC

4.4. RESULTADOS

Durante todo el periodo de investigación de la evaluación de la eficiencia de las hormona Mesterolona en condiciones experimentales, se obtuvieron los siguientes resultados.

1. Fase de tratamiento hormonal:

- Supervivencia durante el tratamiento: 82.3 %*
- Tamaño promedio durante los 28 días de tratamiento.*

Peso: 0.6 g

Longitud: 33.5 mm

2. Fase secundaria (Pre-cría):

- Supervivencia durante la pre-cría: 75 %*
- Tamaño promedio durante los 55 días de pre-cría.*

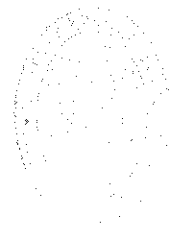
Peso: 8.4 g

Longitud: 74.84 mm

3. Eficacia del andrógeno.

Una vez terminados los análisis microscópicos de observación gonadal, se realizó la evaluación estadística.

Según el análisis del ANOVA de los porcentajes promedios de machos dió una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos, en todo caso DUNCAN fué mas preciso comparando las diferentes tratamientos con el control obteniendo diferencias significativas en las pruebas ME-30 y ME-60; pero no así la comparación entre ME-90 (94.4% ♂) con el control (96.5% ♂) que no existió tal diferencia. Esto demuestra que la hormona (ME) se puede emplearse en reversión sexual con dosis mayor o igual de 90 mg/kg de alimento.



INSTITUTO NACIONAL
DE ACUICULTURA
INIA

ANALISIS DE COSTOS

Para determinar si es rentable la realización de un proceso de reversión química del sexo utilizando la nueva hormona el productor debe hacer un análisis económico.

Costo de la preparación de 1 kg de alimento suministrado a tilapias rojas durante la reversión del sexo.

<u>Ingredientes</u>	<u>Cantidad</u> g/kg	<u>MT - 60</u> (sucres)	<u>ME - 90</u> (sucres)
Metiltestosterona	60 mg	1500	-
Mesterolona	90 mg	-	2880
Alcohol	500 ml	1500	1500
H. de pescado	500 g	1650	1650
H. para pollito	500 g	1000	1000
Premezcla Vit/min.	1 g	25	25
Funda plástica	1	100	100
Mano de obra		<u>1500</u>	<u>1500</u>
	TOTAL:	7275	8655

Observando el costo de alimento hormonal hay un aumento del 19% del costo utilizando la Mesterolona a una concentración de 90 mg.

Realizando un análisis de venta aproximada de 100000 alevines reversados.

Venta del producto: $100.000 \times s/.150 = s/. 15'000.000$

Costo de producción con (MT - 60): $s/. 9'000.000$

Costo de producción con (ME - 90): $s/. 10'500.000$

RENTABILIDAD CON (MT - 60): 40%

RENTABILIDAD CON (ME - 90): 30%

Observando este análisis, no es rentable utilizar la hormona Mesterolona a una concentración de 90 mg.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Considerando que la hipótesis del trabajo se planteó la factibilidad técnica de la utilización de la hormona Mesterolona para reversión del híbrido rojo de tilapia (*Oreochromis mossambicus*), se concluye que:

1. Se puede obtener una reversión química del sexo utilizando la hormona Mesterolona a una concentración mayor o igual de 90 mg de ME/ Kg de alimento obteniéndose así un porcentaje de machos mayor o igual a 95%; pero utilizando concentraciones menores de 90 mg de ME/Kg de alimento puede traer complicaciones; por la presencia de un porcentaje significativo de hembras.

2. Las medias de porcentajes de machos revertidos obtenidos por los análisis microscópicos en los distintos niveles de concentración de Mesterolona fué significativamente diferenciado ($P < 0.05$) del control.

El mayor porcentaje de machos entre los tratamientos obtenidos fue con ME-90 (94.4 %). Demostrándose una diferencia significativa en la prueba 1 y Prueba 2 de le control. No así con la prueba 3 que no existió tal diferencia.

3. Que la dieta con la hormona probada se la realizó con frecuencia de alimentación 4 veces al día, 7 días a la semana por 28 días considerando de esta manera el aporte

de la hormona a la sangre sea más homogénea; realizando esta dosis de alimentación para todos los tratamientos.

4. Es importante señalar que a pesar de no contar con un flujo de agua a través del sistema, para la eliminación de metabolitos; y para el mantenimiento de niveles adecuados de oxígeno, los peces bajo cautiverio crecieron normalmente sin complicaciones.

5. Una ventaja comparativa con las dos hormonas sería que ambas tienen la misma facultad ser suministrada por vía oral, la misma función de revertir el sexo y una ventaja competitiva es que la metil-testosterona hay que importarla y a veces es difícil hacerlo en cambio que la mestrolona se la puede encontrar en los mercados farmacéuticos nacionales.

6. El amonio y los nitritos, son formas de desechos nitrogenados, que resultan de la digestión de las proteínas. Estos desechos se vuelven problemáticos en los sistemas muy intensivos de producción de peces, pero no deben ser problema, si se observan los niveles recomendados de población de los peces en jaulas.

Tomando en cuenta las limitaciones para reversión que se pueden presentar durante el proceso, se establecen las siguientes recomendaciones:

1. Es importante establecer de que es posible dar la hormona Mesterolona en la dieta a una una concentraciones de 90 mg por 28 días, 7 días a la semana en 4 dosis diarias.

2.- Analizar más investigaciones sobre si no tiene algún efecto colateral al ser utilizada la Mesterolona, como por ejemplo, realizar un estudio sobre los residuos hormonales que se encuentra en el músculo del pez después de la reversión .

3.- En el ensayo se estableció la eficiencia de la hormona; demostrándose de que en una concentración de ME - 90 se puede realizar reversión química del sexo. Se recomienda investigar sobre la determinación de la concentración óptima para obtener peces monosexo mayor 95% de machos en un rango de (90 - 120 mg ME).

BIBLIOGRAFIA

1. *Aqua Farm News.*, 1993. Report of tehe tilapia culture. Vol. XI, No.3; 20 pg.
2. Ballarin J. D. & Hatton. 1979. A guide to their biology and culture in Africa. University of Stirling. 20 - 22 pp.
3. Bucheli, P. M. y J. L. Reta. 1986. Aprovechamiento de pequeñas lagunas tropicales con fines de explotación piscícola de *Oreochromis niloticus* en jaulas flotantes. TESIS. IPA. ITMAR. MEXICO.
4. Cheryl Ann Goudil. Dr. Phisiolosophy. Tissue Distribution and elimination of radiobelled Metyltestosterone administered in the diet to sexually undifferentiated and adult tilapia, (*Oreochromis aurea*). Memphis State University U.S.
5. Chew, L. E., and J. G. Stanley. 1973. The effects of methyl-testosterone on sex reversal in bluegill. Program Fish Culture. pp. 44 -47.
6. Clemens, H. P., and . Inslee. 1968. The production of unisexual broods by *Tilapia mossambicus* sex-reversed with methyltestosterone. pp. 18-21.

7. Coche, A. G. 1980. Cage culture of tilapia. In: Summary report the ICLARM. Conference on the biology and culture of tilapia. Ed. by R. S. V. pullin and R.A.
8. Convenio Sepesca/UAM.1. 1994., Desarrollo Científico y Tecnológico del Banco de Genoma de Tilapia. Secretaria de Pesca Guayaquil - Ecuador / 88 pg.
9. Downie N. M. y Heath R. W., 1979. Métodos Estadísticos Aplicados. Tercera edición. Estados Unidos de América. pp. 182 - 246.
10. Estevez, R. M. 1990. Manual de Piscicultura. Universidad de Santo Tomás. Bogota. 230 pg.
11. El Gamal, A. A; R. O. Smitherman and L. L. Behrends. 1988. Viability of red and normal - colored *Oreochromis aureus* and *Oreochromis niloticus* hybrids, p. (153 - 157). The Second International Symposium on Tilapia i Aquaculture.
12. FAO. 1986. Piscicultura en jaulas y corrales. FAO Documento Técnico de Pesca. 255 p.p.
13. FAMILY - SCALE FISH FARMING IN GUATEMALA. 1992. Alabama Agricultural Experiment Station Auburn University. 34 pg.

14. Fondepesca. 1988. *Tilapia y Su Cultivo*. México. 200pp.
15. Guerrero R. D. 1975. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Transaction of the American Fisheries Society*. pp. 342 - 348.
16. Hickling, C. F. 1960. The Malacca *Tilapia* hybrids *J. Genetics*. pp. (1 - 10).
17. Lagler, K. F., and C. Steinmetz. 1957. Characteristics and fertility of experimentally produced sunfish hybrids. *Copeia* 4: 290 - 292.
18. Landivar - Zambrano, J.J. 1989. Determinación de la frecuencia óptima, de alimentación para la reversión química del sexo de *Tilapia nilótica* (*Oreochromis nilótico*). Tesis profesional de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. ESPOL.
19. Landivar y Guartatanga A. 1986 - 1987. Relación longitud- peso de *tilapia nilótica* (5 - 20 cm.). ESPOL. Guayaquil- Ecuador.
20. Lowe, R. H. 1955. The fecundity of *tilapia* species. pp. 45
21. Morales, A. D. 1991. La *tilapia* en México. *Biología, cultivo y pesquerías*. MEXICO. PP. 190.

22. Pagan, F. A. 1969. Cage culture of tilapia. *FAO Fish Culture Bull.* 2(1):6
23. Popma Thomas J. Dr. 1987. *Reporte Final, Proyecto de desarrollo de la Piscicultura de Agua Dulce.* ESPOL, Guayaquil - Ecuador.
24. Popma, T. J. and B. W. Bartholomew, 1990. Sex Reversal of Tilapia in Earthen Ponds. *Aquacultural Production Manual from the International Center for Aquaculture at Auburn University, Alabama, 15 pp.*
25. Schmittou H. R., 1992. Cultivo de peces a alta densidad en jaulas de bajo volomen. ASA (Asociación Americana de Soya). República Popular de China. 83 pp.
26. Semakula, S. N., and J. T. Makoro. 1968. The Culture of Tilapia species in Uganda. *Proc. FAO World Symposium on Warm - Water Pond Fish Culture.* May 18 - 25, 1966, Rome, Italy. pp. 161 - 164.
27. Swingle, H. S. 1950. Relationships and dynamics of balance and unbalanced fish populations. pp. 74.
28. Ufer, J. 1972. *Hormonoterapia en Genico-obstetricia.* Tercera edición española, 1972. Editorial Alhambra S. A. 99.