

Porcentajes de reversión sexual en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) para la obtención de neomachos mediante la aplicación de la hormona masculinizante 17 α -metil testosterona por el método de ingestión (larvas) e inmersión (ovas y larvas).

**PABLO MEJÍA ARISTIZÁBAL
ANA MARÍA ROMÁN LONDOÑO**

Asesores:

Hermes Pineda Santis
Biólogo. MSc Biología

Francy Rojas Madrid
Zootecnista

Grupo de investigación:

INCA-CES

Línea de investigación:

Biotechnología y Desarrollo Integral de Sistemas Pecuarios

**UNIVERSIDAD CES
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MEDELLIN
2009**

**Porcentajes de reversión sexual en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*)
para la obtención de neomachos mediante la aplicación de la hormona
masculinizante 17 α - metil testosterona por el método de ingestión (larvas) e
inmersión (ovas y larvas).**

Autores:

PABLO MEJÍA ARISTIZÁBAL
ANA MARÍA ROMÁN LONDOÑO

Asesores:

Hermes Pineda Santis
Biólogo. MSc Biología

Francy Rojas Madrid
Zootecnista

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**UNIVERSIDAD CES
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MEDELLIN
2009**

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	
1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO Y REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. DIFERENCIA EN EL DESARROLLO CORPORAL DEL MACHO Y LA HEMBRA	5
2.2. MECANISMOS DE EXPRESIÓN DEL SEXO	
2.2.1. Determinación sexual	
2.2.2. Diferenciación sexual	
2.3 REVERSIÓN SEXUAL MEDIADA POR HORMONAS	7
2.3.1 La hormona 17 α -metilttestosterona	8
2.3.2 Mecanismo de acción de la hormona	
2.3.3 Administración de la hormona	9
2.3.4 Efectos de la hormona en tiempos diferentes	10
3. HIPÓTESIS	11
4. OBJETIVOS	12
4.1. OBJETIVO GENERAL	

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
5. METODOLOGÍA	13
5.1. LOCALIZACIÓN Y POBLACIÓN	
5.2. TRATAMIENTOS DE REVERSIÓN SEXUAL	
5.3. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PRODUCTIVOS	15
5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	16
5.5. CONTROL DE ERRORES Y SESGOS	
6. CONSIDERACIONES ÉTICAS	17
7. RESULTADOS	18
8. DISCUSIÓN	22
8.1. HORMONA EN EL ALIMENTO	
8.2. HORMONA EN INMERSIÓN	23
8.3. CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA	25
8.4. RELACIÓN COSTO/BENEFICIO	26
9. CONCLUSIONES	27
10. RECOMENDACIONES	28
BIBLIOGRAFIA	29

RESUMEN

En el cultivo de truchas se encuentran varias alternativas para obtener mayor rentabilidad, siendo la producción de lotes todo hembra una de ellas. En este trabajo se busco determinar cuál es el método más adecuado para producir neomachos (truchas genéticamente hembras pero fenotípicamente machos funcionales), los cuales al cruzarse con hembras normales producirán una progenie 100% hembra. Se evaluaron dos métodos de suministro de la hormona 17α -metil testosterona así: 1. En alimento con una dosis de 0.5 mg/kg de alimento y 2. En inmersión de las ovas y posteriormente las larvas en una solución que contenía la hormona a una dosis de 1.0 mg/l de agua. En estos protocolos se evaluó el porcentaje de reversión para la producción de neomachos y se estableció la relación costo/beneficio para cada uno de los tratamientos. El porcentaje de reversión se determino a través de la técnica de "squash" sobre el tejido gonadal de los animales. Los resultados mostraron en el tratamiento Alimento un 29% de animales revertidos y 11.5% de animales revertidos parcialmente (intersexo). En el tratamiento Inmersión el porcentaje de animales revertidos fue 11% e intersexo 11%. En el tratamiento Control se obtuvo un porcentaje de 100% de animales hembras. Lo anterior permitió establecer una mayor efectividad en la utilización de la hormona en el alimento. Sin embargo, el costo de producción de un neomacho con este tratamiento fue de \$329 pesos, mientras que el uso de la inmersión significo un costo de \$14.7 pesos.

PALABRAS CLAVES: *Oncorhynchus mykiss*, reversión sexual, 17α -metiltestosterona, neomacho, inmersión.

ABSTRACT

In the trout culture there are some alternatives to increase the business profit, being the production of all female stocks one of them. These work tried to determinate the suitable method to produce neomales (genetic female trout but phenotypic functional males) which crossing itself whit normal females will produce a 100% female lineage. Two methods to supply the 17 alpha methyl testosterone hormone were evaluated: 1 in the food with a dose of 0.5mg/kg of commercial trout food and 2. By the immersion of the eggs and later the larvae in a solution that contain the hormone at a dose of 1.0 mg/l of water. In these two protocols the percentage of reversion of the two treatments were evaluated for the production on neomales and the benefit cost relation was established for each treatment. The sex reversal percentage was determinate by the "squash" technique. In the food treatment the result shows that 29% of the animal was totally reverted and 11.5 of the animals were partially reverted. In the immersion treatment the percentage of totally reverted animals was smaller (11%) and the partially reverted was similar (11%) to the food treatment, in the control group was obtained a percentage of 100% females. This allows to establish that is more effective the use of the hormone in the food, nevertheless the production cost of a neomale for the treatment food was of \$329 (pesos) whereas for the treatment immersion was of \$14,7 (pesos).

KEYWORDS: *Oncorhynchus mykiss*, sexual reversion, 17alpha-methyltestosterone, neomale, immersion.

INTRODUCCION

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), reportó una producción mundial anual que alcanzó las 550.473 toneladas de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (FAO, 2006). Los principales países productores son a su vez exportadores de sus excedentes, alcanzando cifras de exportación de 53.000 Ton. y 22.000 Ton, en países como Noruega y Dinamarca respectivamente, representando un poco más del 70% del volumen de sus producciones. Así mismo, La producción chilena aumentó un 51.3% durante la primera mitad del 2007 comparado con el mismo período del 2006, siendo la producción total para el 2006 de 150.000 toneladas, lo que significó el 27.25% de la producción mundial ⁽⁹⁾

El cultivo de truchas o truchicultura se ha venido presentando como una opción productiva en el sector agropecuario colombiano, con muy buenas ventajas para su implementación y desarrollo debido a diversos factores como la cantidad y calidad de las aguas en las regiones andinas. La trucha arcoíris (*O. mykiss*) representa una importante fuente de proteína de origen animal, su cultivo puede fortalecer la seguridad alimentaria de las comunidades pobres y aisladas del país. Igualmente presenta una buena demanda en los principales mercados nacionales, ya que es apreciada por su sabor y valor nutricional. Es importante considerar la productividad por unidad de área que se puede alcanzar con esta explotación, ya que si se dispone de una cantidad de agua adecuada, las necesidades de tierra no son muy extensas, lo cual representa una ventaja frente a otras producciones pecuarias, teniendo en cuenta que la tierra es una de las mayores limitantes hoy en día para la producción pecuaria en el país.

La producción acuícola nacional de peces en cultivo concierne principalmente a las especies de tilapia roja (*Oreochromis* spp.) que ha participado con el 49% de la actividad piscícola, trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) con el 16% y cachamas blanca (*Piaractus brachipomus*) y negra (*Colossoma macropomum*) con el 31%, su participación conjunta durante los últimos 12 años ha sido del 96% del total de la piscicultura y del 65 % de la producción acuícola, el 4% restante de la piscicultura se ha destinado a otras especies como el bocachico (*Prochilodus magdalenae*), la carpa

(*Cyprinus Carpio*) y el yamú (*Brycon amazonicus*), entre otros, las cuales se producen como acompañantes de la producción inicial ⁽⁸⁾.

Para 1999, los departamentos de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca constituyeron el 78% del total de la producción nacional de trucha arcoíris *O. mykiss*, con un 51%, 10,5% y 15,8%, respectivamente. Desde entonces, la producción descendió en un 71% en los siguientes años por la situación de conflicto en los departamentos mencionados. El departamento de Antioquia disminuyó su producción en un 84%, Boyacá 63%, Cundinamarca 82%, Cauca 77%, Huila 61% y Nariño 83% ⁽⁸⁾. Para el 2004, la producción nacional de trucha alcanzó 1.717 Toneladas, de éstas, el departamento de Antioquia participó con el 60% de la producción (1.039 Ton) ⁽⁸⁾. Para el 2006 se reportó una producción nacional de trucha de 2.416 toneladas. ⁽¹¹⁾

La trucha arcoíris *O. mykiss* siempre ha contado con una buena demanda tanto a nivel nacional como regional, por lo que su comercialización esta garantizada. Evidencia de lo anterior son las afirmaciones de los comerciantes del departamento de Antioquia quienes manifestaron que no se cuenta con un volumen de producción apropiado a nivel regional ⁽¹²⁾.

Por lo tanto, es necesario desarrollar tecnologías con el fin de optimizar la producción y suplir esta necesidad del mercado. Una de ellas es contar con poblaciones de animales solo hembras bajo un manejo hormonal. El tratamiento consiste en aplicar una hormona masculina para que los individuos genotípicamente hembras se conviertan en machos funcionales (neomachos = producción de semen), que puedan ser utilizados como reproductores para cruzarlos con hembras normales, y producir una población de solo hembras. En este trabajo de investigación se utilizará esta técnica para conocer los porcentajes de reversión sexual mediante dos métodos de aplicación hormonal (ingestión e inmersión) en trucha arcoíris *O. mykiss*.

1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe un déficit en la producción de trucha arcoíris *O. mykiss* a nivel nacional, por lo que es necesario implementar y adaptar tecnologías empleadas en otros países, para ser más competitivos frente a la industria internacional.

En Colombia no se ha desarrollado un cultivo de alevinos de trucha arcoíris *O. mykiss* de buena calidad debido a que ésta es una especie foránea y en los reproductores nacionales que se han utilizando existe alta endogamia y poca eficiencia biológica, por lo que se recurre al mercado externo (importación) para la provisión de la semilla. De acuerdo con la Asociación Colombiana de Acuicultores ASOACUICOLA, el 95% de las ovas cultivadas en el país son importadas de los Estados Unidos, por cuanto se tienen garantías de obtener un 100% hembras, ya que éstas poseen un mayor desarrollo corporal y el producto final es de mayor aceptabilidad en el mercado. ⁽⁸⁾ Las importaciones de trucha arcoíris *O. mykiss* en Colombia, se están realizando sin tener en cuenta las consideraciones éticas como importación ilegal de ovas de otras especies, evasión de los controles sanitarios necesarios para evitar el entrada de enfermedades exóticas, desconocimiento de la calidad genética de líneas establecidas, procedencia de reproductores, manipulación genética o pruebas de progenie, y los altos costos económicos que representa para el productor debido al valor agregado que trae por la aplicación de la biotecnología de solo hembras.

Dentro de las opciones de optimización de la producción y la competitividad en el mercado de esta especie, se encuentra la reversión sexual a través del uso de las hormonas exógenas, en busca de animales hembras genéticamente, pero machos fenotípica y funcionalmente (llamados neomachos), los cuales pueden ser utilizados como reproductores para cruzar con hembras normales y producir en la siguiente generación una descendencia de 100% hembras.

Se han reportado para este fin, el uso de 31 esteroides diferentes, en los que se incluye la 17α -metilttestosterona, una de las más utilizada por su fácil obtención, gran

estabilidad química, aunque no necesariamente es la más potente ⁽⁶⁾. Estas hormonas han sido utilizadas en 47 especies de peces de las familias *Cichilidae*, *Cyprinodontidae*, *Anabantidae*, *Poecilidae*, *Salmonidae* y *Cyprinidae* ⁽⁶⁾.

En este trabajo se plantea la reversión sexual por medio del uso de la hormona 17 α - metiltestosterona (MT), la cual puede ser suministrada en el alimento al alevino o por inmersión a la ova. Se desconoce cuál de los dos métodos de suministro de la hormona es más efectivo y rentable en la obtención de neomachos. Por lo tanto, se buscará dar respuesta a esta inquietud.

1.2. JUSTIFICACIÓN

Debido a las exigencias actuales del mercado y el aumento de la competitividad de todos los sectores productivos, la piscicultura, y en este caso específico la truchicultura, debe buscar mecanismos de mejoramiento hacia la alta productividad y rentabilidad. Así mismo, los requerimientos diarios de proteína de origen animal en la dieta de una población en constante aumento, hacen de este subsector un elemento valioso para el mercado nacional. Evidencia de esto, es que en el país en los últimos 10 años el consumo de pescado y sus productos se ha incrementado de 3 Kg a 6.5 Kg por persona/año ⁽²⁰⁾, lo que abre nuevos caminos para esta industria. Además, en la actualidad existe un interés progresivo con el propósito de incrementar la exportación de carnes rojas, creando un déficit interno y encareciendo su precio, lo que favorece el desarrollo de la piscicultura como fuente de proteína animal suplementaria.

El empleo de la biotecnología o manipulación genética en la trucha arcoíris *O. mykiss* contribuirá al desarrollo y al progreso de todo el sector truchícola en general, debido a que se estará trabajando con animales que darán un máximo de rendimiento, con un menor costo de mantenimiento. La reversión sexual de estos organismos aportará las bases para la obtención de poblaciones solo hembras, mediante cruces de organismos revertidos con las hembras normales. Este desarrollo en la producción llevará a la exportación de productos provenientes del cultivo de la trucha, a la solución parcial problemas nutricionales en parte de población colombiana, y a la liberación de otras carnes de amplia demanda en los mercados internacionales. Este trabajo es un valioso aporte para el desarrollo de la industria truchícola porque aportará las bases de una biotecnología que ayudará a suplir las necesidades de los productores en el

subsector para que puedan ser competitivas tanto en el mercado nacional como internacional.

1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Entre los métodos de administración de la hormona 17 α -metiltestosterona para obtener reversión sexual (inmersión e ingestión) en hembras genotípicas, ¿cuál presenta una mejor eficacia y cuál es el costo/beneficio de cada procedimiento para el productor?

2. MARCO TEÓRICO Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* fue introducida hacia 1939 en Colombia para el repoblamiento de aguas de uso público en la zona andina con fines de pesca deportiva, específicamente en el lago de Tota (Boyacá) ⁽¹⁵⁾. En la actualidad esta especie se encuentra distribuida en los principales lagos y arroyos de aguas frías (alrededor de 13°C-18°C), en alturas superiores a 1800 msnm ⁽⁸⁾.

Esta especie es un salmónido que se caracteriza por presentar cuerpo alargado, fusiforme y cabeza relativamente pequeña que termina en una boca grande puntiaguda hendida hacia el nivel de los ojos y con una fila de dientes fuertes en cada una de las mandíbulas que le permiten aprisionar las presas capturadas. Su nombre genérico *Oncorhynchus* spp. significa nariz ganchuda o belfo, característica que se acentúa más en los machos en la época de reproducción ⁽²⁰⁾(Ver tabla 1)

TABLA 1. Clasificación taxonómica ⁽¹⁹⁾

Phylum	Cordata
Subphylum	Vertebrata
Clase	Osteichthyes
Subclase	Actinopterygii
Súper orden	Teleostea
Orden	Clupeiformes
Familia	Salmonidae
Subfamilia	Salmoninae
Genero	<i>Oncorhynchus</i>
Especie	<i>mykiss</i>

2.1 DIFERENCIA EN EL DESARROLLO CORPORAL DEL MACHO Y DE LA HEMBRA

La maduración sexual de los peces está relacionada con modificaciones que conducen a la reducción del crecimiento y disminución de la calidad del producto, debido a la alta demanda de energía para el desarrollo gonadal. En salmónidos, estos problemas afectan más a los machos, ya que ellos alcanzan su madurez sexual al año de edad, antes de alcanzar la talla comercial, en cambio la hembra al tener desarrollo gonadal más tardío (a los dos años de edad) puede utilizar esa energía para la obtención de una mayor ganancia de peso y talla⁽²⁾. Por lo tanto, la producción de poblaciones solo hembra constituye una alternativa útil para mejorar la productividad y calidad de los lotes comerciales.

2.2 MECANISMO DE LA EXPRESIÓN DEL SEXO

La expresión o manifestación del sexo depende de dos procesos: la determinación sexual, responsable del sexo genotípico y la diferenciación sexual responsable del desarrollo de los distintos tipos de gónadas, testículos u ovarios, es decir el sexo fenotípico⁽¹⁷⁾

2.2.1 Determinación sexual. En primer lugar es importante recordar que la determinación del sexo genético ocurre al momento de la fecundación. En algunas especies de peces, entre las que se cuentan algunos salmónidos, como la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*, el sistema de determinación del sexo genético es del tipo XX (hembra) / XY (macho) y la diferenciación de los cromosomas sexuales es suficientemente evolucionada ya que permite el reconocimiento de estos cromosomas al examinar el cariotipo de los individuos⁽⁶⁾.

2.2.2 Diferenciación sexual. En peces teleósteos (peces óseos), la diferenciación gonadal se puede dar de muchas formas, desde el caso más común en donde los individuos desarrollan directa y finalmente solo testículos u ovarios al completar la maduración sexual, hasta casos menos comunes como es el de las especies hermafroditas que poseen tejidos gonadales funcionales tanto de hembra como de macho⁽⁵⁾.

Muchos teleósteos son gonocorísticos, es decir que los individuos se desarrollan solo como hembras o como machos y mantienen el mismo sexo durante toda su vida ⁽⁵⁾. Entre las especies gonocorísticas hay especies indiferenciadas y diferenciadas, en las primeras las gónadas de todos los individuos inician en una estructura ovárica, el 50% de los individuos continúan su desarrollo ovárico mientras el resto desarrolla el testículo ⁽²²⁾. En las especies gonocorísticas diferenciadas el desarrollo gonadal temprano se da formando ovarios o testículos a partir de una gónada indiferenciada. Este último comportamiento es el que presenta la trucha arcoíris *O. mykiss*. También es importante tener en cuenta que los estados finales de madurez sexual encontrados en los peces pueden no reflejar la vía de desarrollo gonadal que se tomo inicialmente ⁽⁵⁾.

Las hormonas tipo esteroides son los inductores naturales de la diferenciación sexual en peces, que consiste en la formación de líneas germinales macho o hembra con organización somática de las gónadas. La diferenciación sexual primaria es seguida por el desarrollo de características sexuales secundarias ⁽⁵⁾. Sin embargo, en peces, el desarrollo gonadal es influenciado también por fluctuaciones en factores intrínsecos como crecimiento o comportamiento, o factores ambientales extrínsecos como la temperatura, hormonas exógenas o polución ⁽⁵⁾.

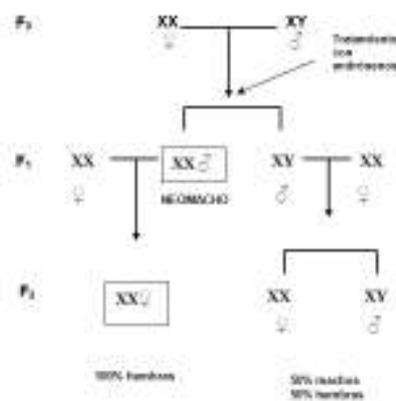
El periodo donde el pez es más susceptible a la intervención endocrina es el tiempo anterior a la diferenciación sexual morfológica. En salmónidos esto ocurre en el periodo tardío pre-eclosión y el temprano post-eclosión ⁽⁷⁾. Es así como el sexo genéticamente prescrito puede fácilmente ser anulado con esteroides exógenos, siempre y cuando sean aplicados en el momento y a las dosis apropiadas durante el desarrollo temprano ⁽²²⁾. En general, los estrógenos inducen feminización y los andrógenos inducen masculinización. Sin embargo, hay reporte de reversiones sexuales paradójicas tales como en el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) donde los tratamientos con andrógenos inducen feminización ⁽²²⁾.

2.3 REVERSIÓN SEXUAL MEDIADA POR HORMONAS

Es una técnica de control sexual directa en la cual se hace masculinización o feminización por tratamientos con andrógenos o estrógenos durante el desarrollo temprano de los peces de producción ⁽⁷⁾.

En especies donde la hembra es cromosómicamente homogamética (hembras: XX / machos: XY), se puede utilizar una técnica donde en una primera etapa se realiza la masculinización de hembras genotípicas (XX), provenientes de un lote de peces de ambos sexos (XX y XY) generando así un lote de hembras revertidas a machos (neomachos), los cuales forman testículos y producen semen, pero no poseen conductos espermáticos y por esto las gónadas deben ser removidas quirúrgicamente, cuando maduren para obtener el esperma ⁽⁷⁾. Luego se realiza la fertilización de una ova normal (X) con el esperma producido por los neomachos, la cual lleva solamente el cromosoma (X) y todo esto llevará a una descendencia todo hembra (XX) genotípica y fenotípicamente. (Fig. 1)^(6,17). Unas de las especies en las cuales se ha llevado a cabo este proceso han sido: goldfish *Carassius auratus*; la trucha arcoíris *O. mykiss* y el salmón del Atlántico *Salmo salar* ⁽⁶⁾.

FIGURA 1. Método indirecto de feminización por tratamiento con andrógenos, apropiado solamente para especies con hembras homogaméticas



Fuente: Piferrer F. 2001(17)

De igual forma, en especies donde el macho es cromosómicamente homogamético, se pueden producir progenies todo macho feminizando en un primer paso una progenie de un cruzamiento normal, parte de la cual serán machos revertidos a hembras (neohembras), que al cruzarse con machos homogaméticos producirán progenies todo macho ⁽⁶⁾.

En trucha arcoíris *O. mykiss*, debido a la alta demanda de líneas monosexo hembras y aprovechando que esta especie cuenta con hembras homogaméticas se ha utilizado la primera técnica descrita, manejando como tratamiento androgénico, la hormona 17 α -metiltestosterona en estados tempranos del desarrollo del huevo y larva. Otras hormonas utilizadas para este fin han sido andrógenos de origen natural como testosterona, 11 ketotestosterona y androstenediona ⁽⁶⁾.

También es factible la feminización, mediante el tratamiento hormonal con un estrógeno, produciendo lotes todo hembra. Estos tratamientos son menos eficaces en revertir los machos a hembras y por lo tanto se necesitan dosis más elevadas para producir buenas tasas de reversión. Otra diferencia importante con la masculinización es que los tratamientos orales deben ser acompañados de inmersión en soluciones de estrógenos. El estrógeno más usado es el 17 β - estradiol que es de fácil obtención y gran estabilidad química ⁽⁶⁾.

2.3.1 La hormona 17 α -metiltestosterona. Es un andrógeno sintético asociado al desarrollo y mantenimiento de las características sexuales secundarias, la inducción espermiática y la diferenciación sexual. Además estimula el crecimiento del esqueleto, posee efecto miotrófico selectivamente, que da lugar a un aumento de la masa muscular en distintas especies y promueve el almacenamiento de nitrógeno que se refleja en un aumento del peso corporal ⁽⁴⁾.

2.3.2 Mecanismo de acción de la hormona. La hormona entra por difusión pasiva en la célula diana, luego se une a un receptor proteico a quien induce un cambio en su conformación y, por último, se da la acción directa de este complejo hormona-receptor sobre el ADN, que determina la modulación de la expresión génica que puede llevar a la activación o la inhibición de determinados genes en la célula diana ⁽¹⁴⁾.

La localización celular de los receptores de esta superfamilia está sujeta a bastante controversia. En la trucha arcoíris *O. mykiss* la inmunorreactividad aparece confinada en el núcleo celular cuando se utilizan anticuerpos contra el dominio de unión a la hormona ⁽¹⁴⁾.

En peces teleósteos, la acción de esta hormona puede ser ejercida directamente sobre las gónadas o pueden ser el resultado de una acción indirecta sobre el hígado, la hipófisis y/o el cerebro, que poseen también receptores de esteroides. Así, como sucede en otros vertebrados, las hormonas esteroides ejercen una regulación mediante retroalimentación sobre el eje cerebro-hipófisis-gónada. Esta retroalimentación, tanto positiva como negativa, incide sobre la síntesis y secreción de gonadotrofinas y de GnRH ⁽¹⁴⁾.

2.3.3 Administración de la hormona. Básicamente existen dos formas para la administración de la hormona: por inmersión o por ingestión. La segunda es la más practicada, incorporando la hormona en la dieta normal y suministrándola por un período establecido. Las variables a considerar son la naturaleza de la hormona, concentración en la dieta, lapso de tiempo del suministro y el momento del inicio del tratamiento ⁽⁶⁾.

Para el tratamiento por ingestión, la hormona sintética 17 α –metiltestosterona se incluye en el alimento disuelta en etanol absoluto, el cual se evapora posteriormente. El rango de concentración se ha determinado por ensayo y error; pero la tendencia es usar la menor concentración que permita tener un porcentaje apropiado de reversión. El nivel normal utilizado en la trucha arcoíris es de 3 mg/kg de alimento, lo que genera aproximadamente un 100% de neomachos a partir de hembras genotípicas. Dosis de 1,0 y 0,5 mg/kg de alimento producen igualmente buenos porcentajes de neomachos (80%). Con relación al tiempo de suministro a las concentraciones señaladas, los mejores resultados se obtienen con suministros entre 60 y 90 días ⁽⁶⁾.

Para el tratamiento por inmersión se tiene en cuenta el período lábil en los peces (período tardío pre-eclosión y temprano post eclosión), ya que su determinación ha facilitado el uso de tratamientos con inmersiones de dos horas de duración para inducir la feminización o masculinización fenotípica ⁽⁷⁾. Trabajos con salmón coho, (*Oncorhynchus kisutch*) sobre tratamiento hormonal en inmersión ha sugerido que para esta especie, el tratamiento

debe iniciarse cuando el 50% de las ovas están eclosionadas y en una solución de la hormona de 400ug/L de agua ⁽⁶⁾.

2.3.4 Efectos de la hormona en tiempos diferentes. En las especies gonocóricas muchas influencias en la función gonadal que ocurren después de la diferenciación sexual están asociadas con infertilidad, por ejemplo tratamientos en trucha arcoíris *O. mykiss* con testosterona o estrógenos después de que la diferenciación sexual ha iniciado pueden detener la gametogénesis causando la suspensión de la oogénesis en las hembras y la regresión del testículo en los machos ⁽⁵⁾. Tratamientos realizados en tiempos superiores a 120 días de edad producen porcentajes elevados de esterilidad, lo que también se produce al aumentar la concentración de la hormona ⁽⁶⁾.

Tratamientos en dietas con 17 α -metiltestosterona después de tiempo normal de diferenciación sexual en hembras de trucha arcoíris *O. mykiss* pueden inducir desarrollo testicular, pero este efecto es transitorio y los efectos masculinizantes se reducen cuando el pez es examinado seis meses después ⁽⁵⁾. Además, dosis altas en alevinos de trucha arcoíris *O. mykiss* pueden producir, paradójicamente, feminización. ⁽⁷⁾

3. HIPÓTESIS

El tratamiento con la hormona 17 metiltestosterona en inmersión de ovas y larvas produce resultados similares a los obtenidos por ingestión de la hormona con la ventaja de presentar menores costos en el procedimiento.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

- Comparar los porcentajes de reversión sexual mediante el uso de 17 α -metil testosterona por ingestión e inmersión en larvas y ovas de trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer los porcentajes de reversión sexual en cada uno de los tratamientos hormonales.
- Evaluar el efecto de la hormona sobre la talla y el peso.
- Relacionar el costo/beneficio en cada uno de los procesos biotecnológicos y el porcentaje de reversión de cada ensayo.

5. METODOLOGÍA

5.1 LOCALIZACIÓN Y POBLACIÓN

Este proyecto se realizó en la finca San Miguel (latitud 5°55'24.38''N y longitud 75°18'14.69''O), ubicada en la vereda San Miguel, La Unión – Departamento de Antioquia (Colombia). A una altura de 2500 msnm, con una temperatura ambiente de 13° y del agua de 11°, una humedad relativa de aproximadamente el 80% y una zona de vida de bosque húmedo montano bajo (bh-MB). La fuente de agua corresponde a la quebrada San Miguel. El agua contiene un oxígeno disuelto de 8 a 10 mg/L y un pH que oscila entre 7 y 7.5.

La población de estudio se obtuvo de 1800 ovas embrionadas importadas desde los Estados Unidos que fueron garantizadas como hembras en un 99%, las cuales llegaron con 15 a 20 días post-fertilización y fueron inmersas en incubadoras californianas. Estas ovas se obtuvieron a partir de la empresa importadora ACUAGRANJA LTDA., localizada en la ciudad de Santa Fé de Bogotá, la cual a su vez compró las ovas a la empresa TROUTLODGE ubicada en Washington (EEUU).

Las condiciones medio ambientales como calidad del agua (temperatura, oxígeno disuelto) se mantuvieron controladas en cada uno de los grupos con el fin de disminuir el error experimental.

5.2 TRATAMIENTOS DE REVERSIÓN SEXUAL

Se evaluaron dos técnicas de reversión sexual mediante la hormona 17 α -metil testosterona así:

Tratamiento 1: Reversión sexual por suministro de la hormona en el alimento.

Al momento de la absorción del saco vitelino y a partir de la apertura de la boca del alevino, aproximadamente 15 días post-eclosión, se inició el suministro de alimento concentrado durante 60 días, el cual contenía un 45% de proteína.

Preparación del alimento concentrado:

La dosis empleada fue de 0.5 mg/Kg de alimento, disuelta en 57 ml de alcohol etílico al 97% y luego vertida en 100 ml de aceite de cocina. La mezcla fue distribuida sobre una capa fina del alimento y se homogenizó vigorosamente ⁽⁶⁾.

Tratamiento 2: Reversión sexual por inmersión.

Se realizaron tres inmersiones en una solución de 1 mg de hormona diluida en 5 ml de alcohol etílico/L de agua (En cada inmersión se utilizaron 2 litros de agua):

- ✓ La primera inmersión se hizo al momento de la recepción de las ovas durante la aclimatación, con aproximadamente 15 días post-fertilización.
- ✓ La segunda se realizó en el momento de la eclosión al cuarto día después de la recepción cuando se encontraron más del 80% de las ovas eclosionadas.
- ✓ La tercera se llevó a cabo a 3 días después de la última inmersión, cuando ya eran larvas.

Tratamiento Control:

Este lote estuvo bajo las condiciones de cultivo estándar para trucha arcoiris (*O. mykiss*), por lo tanto, no fue sometido a ningún tratamiento hormonal con el fin de realizar una comparación del desarrollo gonadal y en peso y talla con aquellos animales sometidos a los tratamientos hormonales.

Se trabajó con tres replicas por tratamiento, cada replica con 200 ovas. Se asumió un porcentaje de mortalidad hasta la etapa de juveniles del 25%.

5.3 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PRODUCTIVOS

Se tomó, mensualmente, el 20% de los animales de cada replica en los tratamientos y grupo control, para hacer las mediciones de peso (g) y longitud total (cm), los cuales fueron registrados por medio de una balanza digital con una precisión de 0.2 g y un calibrador Vernier con precisión de 0.01mm, respectivamente. Las mediciones se tomaron individualmente y los animales fueron anestesiados previamente para su manejo. La toma de datos se llevó a cabo hasta los cinco meses de edad. La recolección de estos datos se hizo a través de unas planillas (Anexo A).

El porcentaje de supervivencia se calculo con la fórmula:

ECUACIÓN 1.

$$\% \text{ de supervivencia} = \frac{\# \text{ de juveniles sobrevivientes}}{\# \text{ de ovas sembradas}} \times 100$$

Para establecer la efectividad de cada uno de los tratamientos sobre el desarrollo gonadal de los animales, se sacrificó, a final del experimento, el 40% de ellos para realizar la técnica de squash, el cual consiste en aplicar una fuerte presión sobre las gónadas a las que previamente se les realizo una tinción con azul de metileno, puestas en un portaobjetos para observar la morfología del tejido con un microscopio, determinando así, si corresponde a un macho, si se observa tejido uniforme sin células redondeadas visible, o a una hembra, si todo el tejido presenta células grandes y redondeadas correspondientes a las oogonias. Un animal con ambos tipos de células en la misma gónada se consideró como intersexo. (Comunicación personal: ASOACUICOLA: Jhon James Betancur López. 3 de diciembre de 2007). Este procedimiento se realizó en el laboratorio de histología de la Universidad CES sede Poblado.

Se tomaron registros de gastos generales en cada uno de los tratamientos utilizados para establecer la relación costo – beneficio general.

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Este trabajo de investigación tuvo un muestreo aleatorio simple (MAS) con tres tratamientos cada uno con tres replicas con mediciones mensuales durante cinco meses que incluye estadística descriptiva y análisis de varianza. Por considerar las muestras independientes, no se tratará como medidas repetidas en el tiempo.

Las variables morfométricas de peso y longitud total son cuantitativas de tipo numérico continuo y las variables de porcentaje de mortalidad y de reversión sexual son cuantitativas de tipo numérico discretas. Todos los datos fueron registrados en una hoja de cálculo ^(Microsoft Excel) y procesados mediante el paquete estadístico JMP™.

5.5 CONTROL DE ERRORES Y SEGOS

El experimento se llevó a cabo bajo condiciones controladas, las mediciones y manejo de los animales fueron realizadas por el mismo personal, los muestreos se realizaron de forma aleatoria y al mismo tiempo en todos los tratamientos.

6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Las ovas importadas que se utilizaron en este proyecto no fueron manipuladas en exceso para evitar el estrés, y durante la toma de datos, los animales se anestesiaron para facilitar su manejo. El tratamiento hormonal y la toma de datos se realizaron por personal capacitado siguiendo los protocolos de buenas prácticas de manejo establecidos en la truchera San Miguel. Los tratamientos y los factores físicos, químicos y biológicos del agua estuvieron bajo control durante todo el tiempo. El sacrificio de los animales se realizó por el método de disminución gradual de temperatura, es decir, inmersión a bajas temperaturas de agua (4°C) para que el metabolismo vaya disminuyendo su ritmo.

Adicionalmente, durante la aplicación de la hormona, no se permitió el acceso directo a ninguna mujer, ya que es una hormona masculinizante que podría tener efectos no deseados sobre su metabolismo hormonal. Los efectos residuales de la hormona no son acumulativos en el tiempo y su rápida degradación no permite su presencia al momento del sacrificio ⁽⁹⁾. Los animales sacrificados no fueron destinados al consumo humano. La disposición final de los animales sacrificados se realizó bajo los protocolos de sanidad establecidos para la estación piscícola.

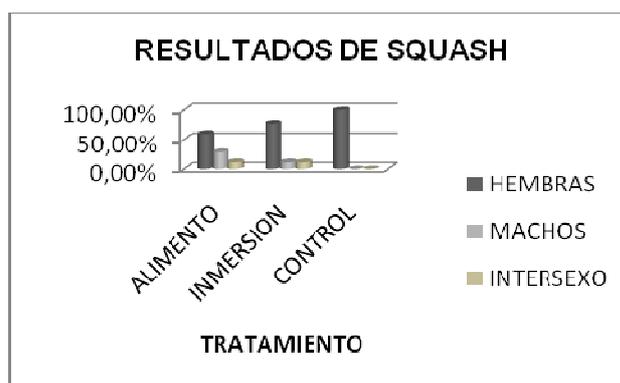
7. RESULTADOS

En la tabla 2 se presenta la cantidad de animales observados y el porcentaje de cada sexo, identificados a través de la técnica de squash. En el Control se observaron los resultados esperados al obtener solo hembras (100%) en el total de los animales muestreados. En el tratamiento hormonal se observaron animales revertidos de forma parcial (intersexo) (11.5% para ambos tratamiento) o totalmente (machos) (28.85% y 11.36% en Alimento e Inmersión, respectivamente) (Ver anexo1-5). Se observó un mayor efecto de la hormona en el tratamiento Alimento que en el de Inmersión. (Véase figura 2)

TABLA 2. Resultado del “squash” en cada tratamiento

Tratamientos=>	Alimento		Inmersión		Control	
Sexo	Cantidad	%	Cantidad	%	Cantidad	%
Hembras	31	59,62	68	77,27	64	100,00
Machos	15	28,85	10	11,36	0	0,00
Intersexo	6	11,54	10	11,36	0	0,00

FIGURA 2. Resultado del squash en cada tratamiento



La correlación peso y talla fue alta y significativa, lo cual sugiere que el peso tiene un comportamiento similar a la talla en cada uno de los tratamientos (véase tabla 3).

TABLA 3. Correlaciones entre peso y talla de los animales analizados en los diferentes tratamientos para los diferentes momentos del muestreo

Tratamientos	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero
Alimento	0,8314***	0,9285***	0,9234***	0,7871***
Inmersión	0,7673***	0,8791***	0,9348***	0,9017***
Control	0,7985***	0,9219***	0,9457***	0,9073***

*Significativo **Muy significativo ***Altamente significativo

El porcentaje de supervivencia fue mayor en el tratamiento Inmersión seguido por el Control y finalmente el de Alimento. (Véase Tabla 4)

TABLA 4. Porcentaje de supervivencia.

	Alimento	Inmersión	Control
Porcentaje de supervivencia	21,83	36,67	26,83

En las figuras 3 y 4 se observan los resultados de la estadística descriptiva para los pesos y las tallas en los diferentes tratamientos. En ambos, la media aritmética siempre presentó un valor en aumento con varianza variable y un coeficiente de variación para las tallas con un rango entre 8 y 14, sugiriendo una homogeneidad en los datos. No así para los pesos que presentaron una mayor variación.

FIGURA 3. Resultados estadísticos de la talla por tratamiento en el tiempo.

Tratamiento =>	OCT			NOV			DIC			ENE			FEB		
	A	I	C	A	I	C	A	I	C	A	I	C	A	I	C
MEDIA ARITMETICA	27,27	29,49	29,68	50,41	55,22	55,23	69,46	85,16	84,50	99,12	106,50	108,49	121,77	133,17	125,96
DESVIACIÓN ESTANDAR	2,68	3,54	3,16	5,62	4,30	4,59	4,64	7,05	8,35	13,12	14,79	12,90	14,83	13,61	12,68
VARIANZA	7,19	12,52	9,98	31,53	18,47	21,10	21,57	49,73	69,70	172,15	218,09	166,44	219,99	185,24	160,83
COEFICIENTE DE VARIACIÓN	9,84	12,01	10,64	11,34	7,78	8,32	6,69	8,19	9,88	13,24	13,89	11,89	12,18	10,22	10,07
n	53	89	94	61	68	80	49	47	47	23	48	42	29	20	28

*A: Alimento. I: Inmersión. C: Control

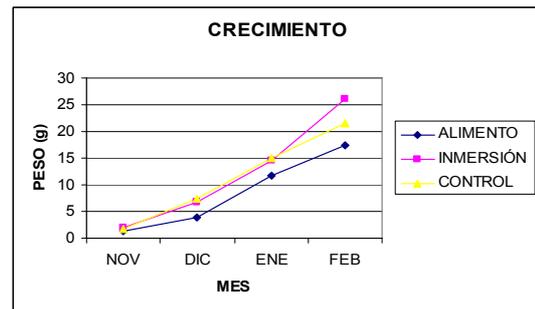
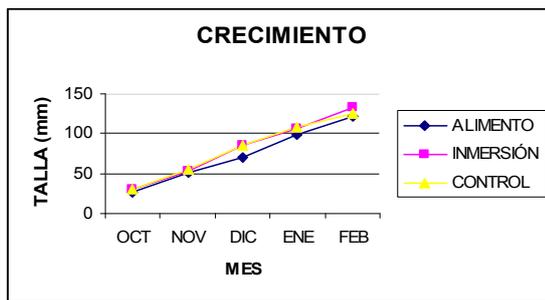
FIGURA 4. Resultados estadísticos de peso por grupo en el tiempo

Tratamiento =>	NOV			DIC			ENE			FEB		
	A	I	C	A	I	C	A	I	C	A	I	C
MEDIA ARITMETICA	1,39	1,96	1,84	3,93	6,69	7,38	11,69	14,52	14,95	17,35	25,99	21,59
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0,49	0,54	0,49	0,90	1,68	1,81	4,65	5,66	5,23	3,53	6,46	5,96
VARIANZA	0,30	0,29	0,24	0,82	2,83	3,28	21,62	32,01	27,40	12,43	41,72	35,52
COEFICIENTE DE VARIACIÓN	35,12	27,56	26,57	23,01	25,16	24,53	39,78	38,96	35,00	20,32	24,85	27,61
n	59	70	80	49	51	32	24	50	42	22	19	27

En todos los tratamientos se presentaron crecimientos en talla y peso través del tiempo siendo muy similares el tratamiento Control y el de Inmersión seguidos por el de Alimento. (Figura 5 y 6)

FIGURA 5. Talla de cada grupo en el tiempo.

FIGURA 6. Peso de cada grupo en el tiempo.



En el mes de octubre no se tomaron datos de peso, debido que el equipo utilizado para realizar el pesaje no tenía la suficiente sensibilidad para arrojar los valores precisos del peso de los alevinos, todavía con tamaños muy pequeños. Hasta el mes de noviembre se observó un aumento de peso similar y desde allí se presentaron diferencias durante el resto del ensayo.

El costo beneficio se determinó partiendo de que los costos fijos para todos los tratamientos fue exactamente el mismo (alimento, mano de obra, valor de ovas) y conociendo el precio por gramo de la hormona utilizada, el cual fue suministrado por la empresa Acuagranja LTDA. La hormona 17 α - metiltestosterona marca SHEBEN en una presentación de 10gr cuesta \$145.000 pesos colombianos esto equivale a \$ 14.500 pesos

colombianos por gramo. En el grupo alimento se prepararon tres porciones de 1 kg cada una, teniendo en cuenta la dosis de 0.5 mg de hormona por cada Kg de alimento, se utilizaron en total 1.5 mg de hormona. En el grupo inmersión se utilizaron 2 litros de agua por cada procedimiento que fue realizado en tres oportunidades y la dosis utilizada fue de 1mg por litro de agua, en total se utilizaron 6 mg de hormona para este tratamiento. Con base en este cálculo, en el presente trabajo, el tratamiento hormonal suministrado por alimento es más costoso que por inmersión (Vér tabla 5).

TABLA 5. Costo de cada tratamiento (pesos colombianos)

RUBRO	ALIMENTO			INMERSIÓN		
	COSTO/UNIDAD	UNIDADES	COSTO TOTAL	COSTO/UNIDAD	UNIDADES	COSTO TOTAL
HORMONA (mg)	\$14,5	1,5	\$21.75,00	\$14,5	6	\$87,0
ACEITE (ml)	\$13,0	300	\$3.900,00	\$0,0	0	\$0,0
ETANOL (ml)	\$6,0	171	\$1.026,00	\$6,0	10	\$60,0
TOTAL			\$4.947,75			\$147

La diferencia entre los dos tratamientos con respecto a los costos es de \$4.800 pesos colombianos. El costo de cada tratamiento con relación a su eficiencia arrojó el dato de cuánto costó un neomacho por inmersión y por alimento. Un neomacho creado a partir de la utilización de la hormona en el alimento costó \$329,85 pesos colombianos, mientras que por inmersión \$14.7 pesos colombianos. (Ver tabla 6)

TABLA 6. Costo por animal revertido (pesos colombianos).

TRATAMIENTO	COSTO TRATAMIENTO	ANIMALES REVERTIDOS TOTALMENTE	COSTO POR NEOMACHO
ALIMENTO	\$4.947,75	15	\$329,85
INMERSIÓN	\$147	10	\$14,70

8. DISCUSION

El tratamiento hormonal con andrógenos se ha venido utilizando en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) para obtener lotes solo hembras (monosexo). Se han utilizado diferentes dosis en alimento e inmersión suministradas en las primeras etapas de la vida del pez, buscando la reversión y la formación de los conductos espermáticos que permitan la salida del semen de una manera fisiológica.

Con los resultados encontrados se pudo observar que hubo reversión sexual de células gaméticas en los tratamientos con hormonas respecto al Control. La reversión sexual fue mayor en el tratamiento Alimento que en Inmersión, en ambos, la reversión se dio en un porcentaje bajo, comparado con los resultados esperados basados en estudios anteriores que se mencionan a continuación. Además, en los tratamientos hormonales se presentaron animales con un combinación de células en diferenciación en la gónada, este estado se identificó como intersexo, es decir, en sus gónadas existen tejidos tanto de testículo como de ovarios en distintas zonas. Debido a la edad de sacrificio (5 meses) no se pudo determinar si finalmente serían machos funcionales o no, ya que estos intersexo en su fase adulta pueden finalmente desarrollar completamente el tejido testicular.

8.1. HORMONA EN EL ALIMENTO

La reversión sexual en el tratamiento de Alimento fue baja comparado con resultados arrojados por estudios previos.

Probablemente la dosis tan baja utilizada en este trabajo sumada al tipo de protocolo que se ha manejado en Colombia con dosis mayores fue el punto para reducir la reversión. La dosis de hormona se utilizó bajo un protocolo de preparación diferente al que había dado los altos porcentajes de reversión. En el protocolo utilizado no se realizó la inmersión del alimento en alcohol con la hormona como se hace en Brasil (comunicación personal: Dra. Yara Aiko Tabata. 3 de octubre de 2008), sino que se roció la hormona diluída en alcohol sobre el alimento. Teniendo en cuenta la dosis tan baja utilizada, la inmersión del alimento

garantiza la incorporación y homogenización de todo el concentrado con la hormona, llevando así a que todos los peces puedan tener igual contacto con la hormona durante el consumo.

En Chile, dosis de 1,0 y 0,5 mg/kg de alimento produjeron buenos porcentajes de neomachos (80%)⁽⁶⁾. Según la Dra. Tabata, las dosis administradas oralmente de 250µg/kg de alimento ofrecida durante 60 a 90 días a partir del inicio de alimentación exógena produce un 95% de masculinización en lotes 100% hembras. (Comunicación personal: Dra. Yara Aiko Tabata. 20 de enero 2009).

Por otro lado, el Dr. Ninhaus trabajo con dosis de 0.5mg/kg con un 80% de reversión sexual desarrollando conductos espermáticos en los neomachos, evitando así el posterior sacrificio de éstos. (Comunicación personal: ASOACUICOLA: Zootecnista Francy Rojas. 10 de octubre de 2007). Para este ensayo, esta fue la dosis utilizada pero a causa de la duración del ensayo, no se pudo determinar si se habían formado o no los conductos.

La dosis utilizada para la aplicación de la hormona en tratamientos con el alimento había sido de 3 mg/Kg alimento con una reversión del 90% (Comunicación personal: ASOACUICOLA: Zootecnista Francy Rojas. 20 de junio de 2006). De otra parte, en Venezuela, se utilizó la misma dosis con un 57% de las hembras masculinizadas, 27% presentaron gónadas atrofiadas y 16% no fueron afectadas por el tratamiento ⁽³⁾. En Chile, con una dosis de 3 mg/kg de alimento, obtuvieron aproximadamente un 100 % de neomachos a partir de hembras genotípicas. ⁽⁶⁾ Sin embargo, con estas dosis se reporta la necesidad de sacrificar los ejemplares debido a que origina el cierre de conductos seminales en las hembras masculinizadas, y en el momento de la maduración el semen no encuentra salida por lo que es necesario extraer los testículos para poder realizar las actividades de reproducción ⁽³⁾.

8.2. HORMONA EN INMERSIÓN

En el tratamiento de Inmersión los bajos porcentajes pueden explicarse por el momento en que se realizaron los tratamientos.

La reversión que se obtuvo en el tratamiento de Inmersión probablemente se debió a que la hormona fue almacenada en el saco vitelino durante los baños pero fue suministrada en un período más temprano del indicado, lo que hizo que se diluyera el efecto hormonal.

Esta afirmación se hace después de haber consultado estudios que muestran períodos diferentes para realizar este tratamiento aunque ninguno reporta porcentajes de reversión. Los baños de inmersión en salmónidos aplicados próximos a la eclosión son eficientes para vehicular los esteroides, ya que estas especies poseen un gran volumen de vitelo, que sirve como reservorio para la hormona, que es absorbida durante la fase de diferenciación sexual ⁽¹⁷⁾. Sin embargo, en este trabajo se mostró que inmersiones en esas etapas no dieron muy buen resultado. La Dra. Tabata afirma que el momento más adecuado para realizar la inmersión es la diferenciación sexual que en trucha arcoíris (*O. mykiss*) corresponde al tiempo de absorción del saco vitelino. (Comunicación personal: Dra. Yara Aiko Tabata. 20 de enero de 2008). Además ya se ha establecido que el período de mayor sensibilidad al tratamiento hormonal es a partir de la primera alimentación en la especie en mención. ⁽²¹⁾

En cuanto a la dosis, en el país no se han reportado ensayos al respecto. En salmón coho (*O. kisutch*), el mayor porcentaje de machos se produce al aplicar una sola inmersión a los 514 grados día en una solución de 400 µg de 17α-metiltestosterona por un lapso de dos horas, obteniéndose un 78% de machos ⁽⁶⁾. En el salmón coho la diferenciación sexual se da antes de la primera alimentación y por esto las inmersiones se realizan en estos períodos (Comunicación personal: Dra. Yara Aiko Tabata. 20 de enero de 2008). En Chile Dazarola *et al.*, (1990), obtuvieron truchas monosexo por inmersión e ingestión de 17 α-metiltestosterona, alcanzando un 81% de machos ⁽⁶⁾, pero se desconoce las dosis y los tiempos de inmersión.

En un ensayo posterior podría probarse si el mejor momento para realizar la inmersión es en el que las larvas estén absorbiendo el saco vitelino.

8.3. CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

El crecimiento en el Control fue mayor comparado con el de los tratados hormonalmente, sugiriendo que existió una relación negativa de la hormona sobre el crecimiento de los otros dos tratamientos. Sin embargo, en Sea Bass europeo (*Dicentrarchus Labrax* L.) tratadas con 17 α -metiltestosterona en la ración, menciona que el tratamiento hormonal acelera el crecimiento en juveniles (hasta los 3 meses) y suprime el crecimiento de adultos ⁽²³⁾. Para la tilapia roja (*Oreochromis spp*) se realizó reversión sexual por inmersión pero la hormona no afectó los parámetros de peso, longitud y altura ⁽¹³⁾

Resultados arrojados en un ensayo en Venezuela con reversión sexual en trucha arcoíris (*O. mykiss*), bajo la utilización de 17 α -metiltestosterona en el alimento, son similares a los del presente estudio. Para ellos el peso promedio del grupo control fue mayor que el experimental, 245,07 \pm 178,23 vs. 187,03 \pm 138,82 g \pm DE, respectivamente. Los pesos fueron también diferentes a lo largo del tiempo de cultivo.⁽³⁾

El menor crecimiento lo mostró el tratamiento de Alimento, el cual en sus primeras etapas de alimentación tuvo problemas al adquirir el concentrado debido a que el tamaño de la partícula fue el mismo desde la primera alimentación hasta el final del tratamiento (día 60) dificultando en los últimos días la aprehensión de la ración. Aunque el almacenamiento se realizó en las condiciones óptimas establecidas, es posible también que la utilización de aceite en esta preparación haga más susceptible el concentrado al enranciamiento y de esta forma hacer que los peces lo rechacen. Por su parte, el tratamiento de Inmersión tuvo un bajo crecimiento debido probablemente a la densidad que se manejo, ya que a pesar de que siempre estuvieron confinados en el mismo espacio, siempre hubo mayor número de peces en el tratamiento de inmersión debido a que fue el grupo con más baja mortalidad del ensayo.

En cuanto a la sobrevivencia, en los tres grupos fue baja comparada con la esperada para la especie (80%) y se encontró que el tratamiento hormonal no afectó la sobrevivencia. El grupo de Inmersión tuvo una mayor sobrevivencia que los otros dos. La sobrevivencia baja pudo responder a otros factores medioambientales como turbidez del agua (en invierno), escasez del agua (en verano), enfermedades y altas densidades manejadas en

la granja. Sin embargo se afirma que tratamientos con esteroides sintéticos resultan en alta mortalidad en la mayoría de las especies. Así, la masculinización de especies con machos heterogaméticos puede llevar a una menor sobrevivencia (24%) de machos XX.⁽¹⁶⁾

En estudios previos obtuvieron una sobrevivencia menor en el grupo tratado con hormona; sin embargo, en ambos casos el valor fue muy similar (sin descender del 95%), indicando que la hormona utilizada bajo las condiciones de ese estudio no afectó la sobrevivencia de las truchas.⁽⁶⁾

En tilapia roja se observaron valores de sobrevivencia similares entre el grupo tratado y el control de más del 75% reportado para la especie durante los tres primeros meses de vida⁽¹³⁾. Para este trabajo la sobrevivencia de los alevinos sometidos al tratamiento de inmersión también fue levemente superior a la de los alevinos del tratamiento de reversión por alimento.

8.4. RELACIÓN COSTO/BENEFICIO

El mayor porcentaje de reversión fue obtenido suministrado la hormona con el alimento, pero en este trabajo resulto mucho más costoso producirlo, por lo tanto, para aprovechar los bajos costos por el tratamiento por inmersión se sugiere modificar los momentos de exposición a la hormona.

9. CONCLUSIONES.

La hormona 17 α -metitesterona, a las dosis utilizadas, produjo un efecto masculinizante tanto en el tratamiento Inmersión como en el de Alimento. La reversión fue baja en ambos, sin embargo se presentó una mayor reversión en el tratamiento Inmersión que en el de Alimento. En ambos tratamientos se obtuvieron animales revertidos parcialmente (intersexo).

Se presentaron menores valores en las variables de peso y talla en los animales tratados con hormonas respecto al control, debido a factores ambientales (tamaño de la partícula de concentrado en el tratamiento alimento y densidades mayores por menor mortalidad en inmersión) que no fueron controlados.

Es más rentable producir neomachos a través del uso de la hormona por el método de inmersión en una solución que contenga la hormona que la aplicación de la misma en el alimento.

10. RECOMENDACIONES

Es necesario alargar el tiempo del ensayo y evaluar la eficacia de los tratamientos realizando pruebas de progeñie en los animales aparentemente revertidos para tener resultados más precisos.

La utilización de una técnica de histología específica para las gónadas permitirá tener resultados más objetivos y próximos a la realidad.

Se sugiere que en próximos ensayos se realice una previa dilución de la hormona en alcohol para luego hacer la inmersión del alimento, posteriormente secar el concentrado en un horno y almacenar para administrarlo a los peces diariamente.

BIBLIOGRAFIA

1. Acero Sánchez A. Informe sobre la pesca continental y la piscicultura en Colombia. INDERENA/FAO 1971
2. Bastardo H, Guedez C, León M. Características del semen de trucha arcoiris de diferentes edades, bajo condiciones de cultivo en Mérida, Venezuela. *Zootecnia Trop* 2004; 22(3):277-288.
3. Bastardo H, Sara B, Sofia B. Masculinización de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, para obtener descendencia todas hembras en un criadero venezolano. *Zootenia Trop* 2003; 21(1): 27-41.
4. Botana LM, Landoni F, Jiménez TM. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Madrid: McGraw-Hill-interamericana; 2002.
5. Devlin RH, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture* 2002; 208: 191-364.
6. Diaz NF, Neira R. Biotecnología aplicada a la acuicultura. (Biotecnologías clásicas aplicadas a la reproducción de especies cultivadas.) *Cien. Inv. Agr* 2005; 32(1): 45-59.
7. Donaldson EM. Manipulation of reproduction in farmed fish. *Animal reproduction science (repsn)* 1996; 42: 381-392.
8. Espinal CF, Martínez Covadela HJ, Gonzales Rodríguez FA. La cadena de la piscicultura en Colombia una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005.

9. Documento de trabajo no. 106. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Observatorio Agrocadenas Colombia.
10. FAO. Salmon and Trout - September 2007 – Chile.
11. Gale WL, Fitzpatrick MS, Lucero M. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*) by immersion in androgens. *Aquaculture* 199; 178; 349-357.
12. ICA. Estadísticas de la pesca y acuicultura en Colombia. 1993-2006
13. INCODER. Sistema de información de precios y mercados para la producción acuícola y pesquera: análisis de coyuntura. Boletín semanal 24: 25 de febrero al 03 de marzo de 2006
14. López CA, Botero MC, Carvajal DL. Masculinización de tilapia roja (*Oreochromis spp*) por inmersión utilizando 17α -metiltestosterona. *Rev Col Cienc Pec* 2007; 20: 318-326
15. Muñoz Cueto JA. Cultivo de peces marinos. Coquimbo, Chile. Editorial Universidad Católica del Norte. pp. 101-158. 2005.
16. Ninhaus Silveira A, Foresti F, Aiko Tabata Y, Guilherme Rigolino M, Veríssimo Silveira R. Cryopreservation of semen functional sex-reversed genotypic females of the rainbow trout *oncorhynchus mykiss*. *Brazilian archives of biology and technology an international journal* 2006; 49 (1): 73-77.
17. Pandian TJ, Sheela S.G. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture* 1995; 138: 229-281
18. Piferrer F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture* 2001; 197: 229–281

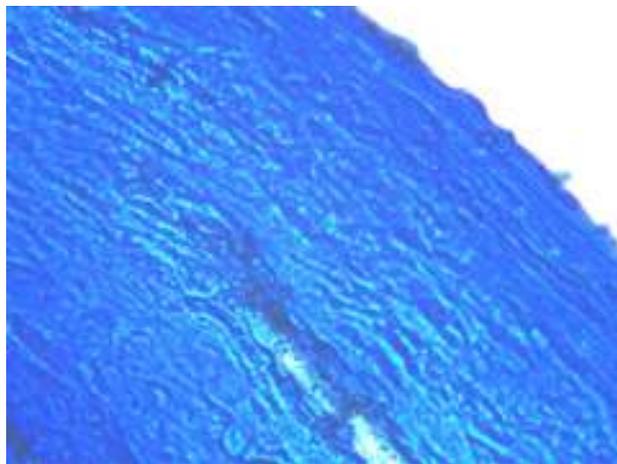
19. Pineda Santis H, Jaramillo Pino J. Triploidia en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*): posibilidades en Colombia. Rev Col Ciencia Pec 2004; 17 (1): 45 -52
20. Salazar Ariza G. Introducción: consideraciones generales sobre la acuicultura. En: Rodríguez Gomez H, Daza PV, Carrillo Ávila M. Fundamentos de acuicultura continental. Bogotá: Editorial Instituto Nacional de pesca y acuicultura; 2001. p. 1-18.
21. Rosado Puccini R, Erazo Keller A. Aspectos básicos sobre cultivo de trucha arcoiris. En: Fundamentos de acuicultura continental. Bogotá: Instituto Nacional de pesca y acuicultura; 2001. p. 301-327.
22. Shepherd CJ.; Bromage, NR. 1999. Piscicultura intensiva. Acribia editorial. Huesca (España). Pg. 135-136-137.
23. Uguz C, Iscan M, Togan I. Developmental genetics and physiology of sex differentiation in vertebrates. ETAP 2003; 14: 9-16
24. Zanuy S, Blázquez M, Piferrer F, Carrillo M, Donaldson EM. Development of sex control techniques for European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax l*) aquaculture: effects of dietary 17- α -methyltestosterone prior to sex differentiation. Aquaculture 1995; 135:329-342.

ANEXOS

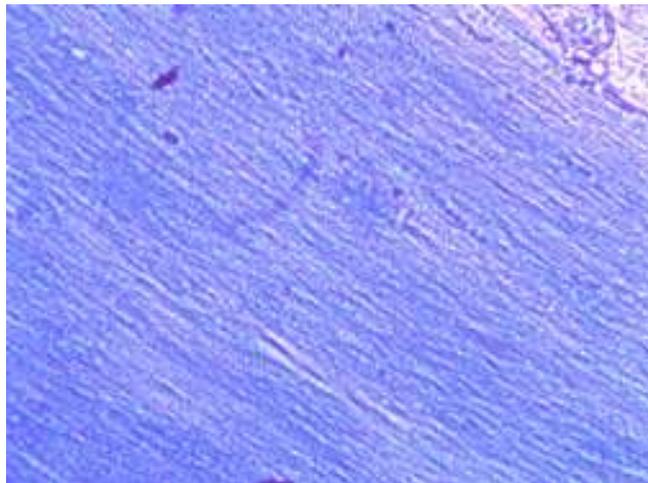
Anexo 1

Fotografía en objetivo 10X de gónadas del tratamiento Alimento.

A y B Fotografías de gónadas con características masculinas (neomachos). Se observa presencia de túbulos seminíferos por todo el tejido gonadal en forma de líneas tortuosas. No se observan oocitos.



(A)

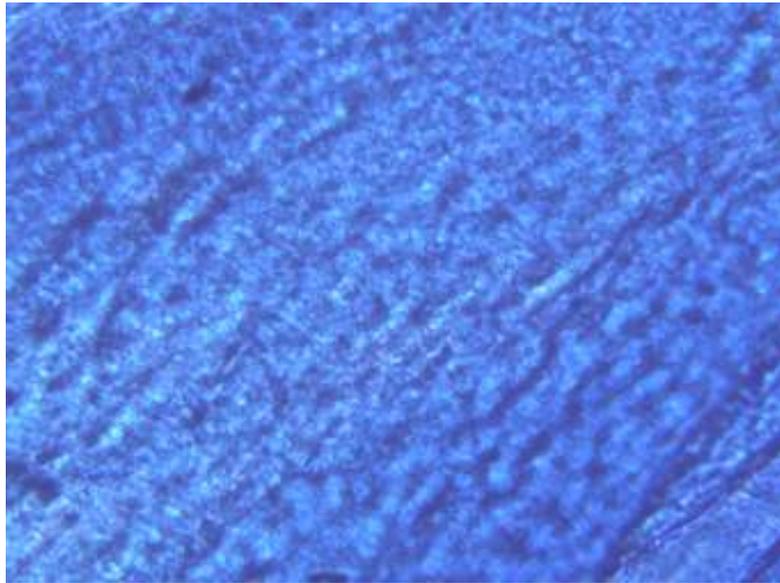


(B)

Anexo 2

Fotografía en objetivo 10x de gónadas del tratamiento Inmersión.

A y B Fotografías de gónadas con características masculinas (neomachos). Se observa presencia de túbulos seminíferos por todo el tejido gonadal en forma de líneas tortuosas. No se observan oocitos.



(A)

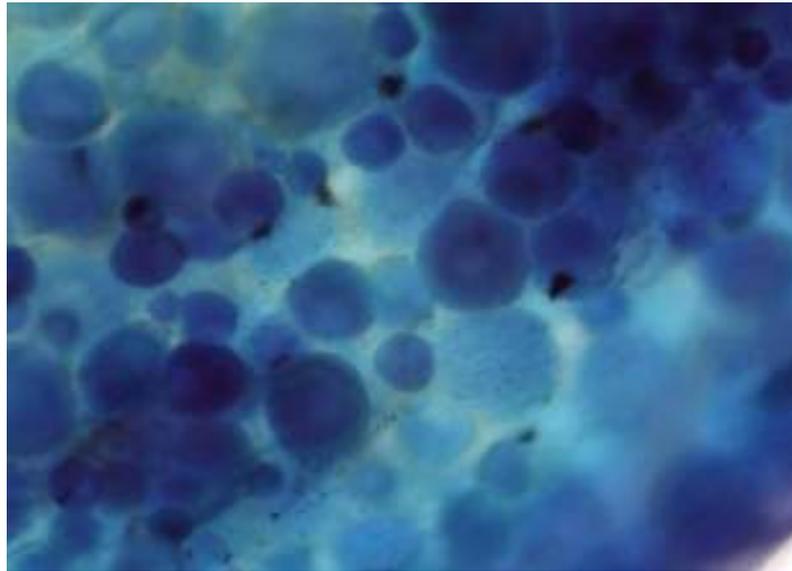


(B)

Anexo 3

Fotografías en objetivo 10X de gónadas de animales control.

A y B Fotografías de gónadas con características femeninas. Se observa presencia de oocitos (células esféricas) por todo el tejido gonadal. No se observa tejido gonadal masculino.



(A)

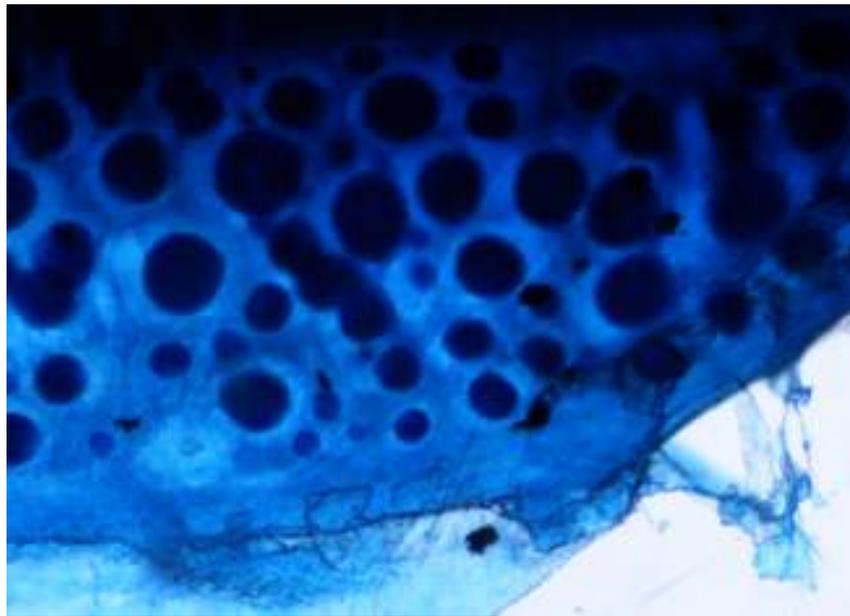


(B)

Anexo 4

Fotografías de gónadas de animales no revertidos (hembras) de Alimento e Inmersión.

A y B Fotografías de gónadas con características femeninas. Se observa presencia de oocitos (células esféricas) por todo el tejido gonadal. No se observa tejido gonadal masculino. La fotografía B es vista a través de un objetivo de 100x. En estas se observa la forma cilíndrica de los oocitos.



(A)

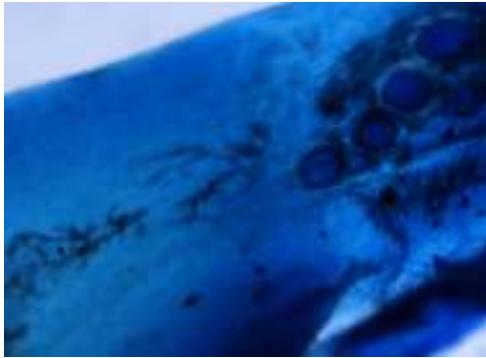


(B)

Anexo 5

Fotografías de gónadas por el método de squash de animales revertidos parcialmente (intersexo) en tratamientos de Alimento (A y B) e Inmersión (C y D).

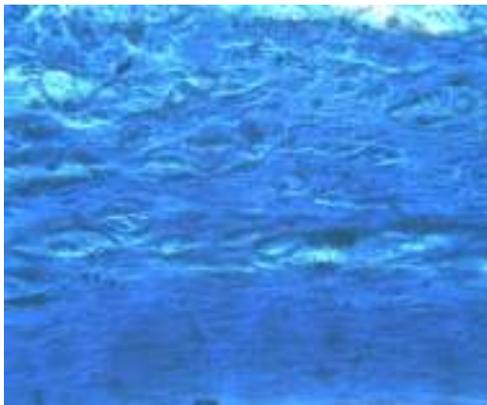
A, B, C y D Fotografías de gónadas con características femeninas y masculinas (intersexo). Se observa presencia de oocitos (células esféricas) y de tejido gonadal masculino caracterizado por túbulos seminíferos (líneas tortuosas).



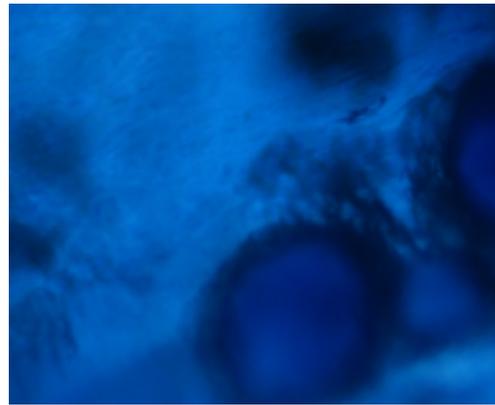
(A)



(B)



(C)



(D)

