

## Evaluación del periodo de masculinización en la tilapia del Nilo var spring empleando 17 $\alpha$ -metiltestosterona

### Evaluation of the masculinization period in the Nile tilapia spring strain employing 17 $\alpha$ -methyltestosterone

Adriana Trejo-Quezada<sup>1</sup> ,  
Daniel Calzada-Ruiz<sup>2</sup> ,  
Freddy Soriano-Luis<sup>3</sup> ,  
Nicolas Valenzuela-Jimenez<sup>4</sup> ,  
Manuel Ramirez-Ochoa<sup>1</sup> ,  
Raúl Moreno-de la Torre<sup>1</sup> ,  
Juan Pablo Alcántar-Vázquez<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup>Laboratorio de Acuicultura, DES: Ciencias Agropecuarias. Universidad del Papaloapan (UNPA). Av. Ferrocarril s/n, Col. Ciudad Universitaria, CP. 68400. Loma Bonita, Oaxaca. México.

<sup>2</sup>Laboratorio de Acuicultura Tropical, División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5 S/N, Entronque a Bosques de Saloya. CP. 86150. Villahermosa, Tabasco, México.

<sup>3</sup>Laboratorio de producción de alevines masculinizados "Tilapia del Papaloapan". San Juan Bautista Valle Nacional, Oaxaca, México.

<sup>4</sup>Laboratorio Químico-Biológico, DES: Ciencias Agropecuarias. Universidad del Papaloapan (UNPA). Av. Ferrocarril s/n, Col. Ciudad Universitaria, CP. 68400. Loma Bonita, Oaxaca. México.

\*Autor de correspondencia:  
jupasoul@hotmail.com

#### Artículo científico

Recibido: 12 de octubre 2020

Aceptado: 26 de enero 2021

Como citar: Trejo-Quezada A, Calzada-Ruiz D, Soriano-Luis F, Valenzuela-Jimenez N, Ramirez-Ochoa M, Moreno-de la Torre R, Alcántar-Vázquez JP (2021) Evaluación del periodo de masculinización en la tilapia del Nilo var spring empleando 17 $\alpha$ -metiltestosterona. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 8(1): e2739. DOI: 10.19136/era.a8n1.2739

**RESUMEN.** Una alternativa para reducir el uso de hormonas con aplicación inmediata en el cultivo comercial de la tilapia del Nilo, es la evaluación precisa de los tiempos de masculinización en variedades domesticadas. El objetivo del trabajo fue evaluar el porcentaje de masculinización y el crecimiento obtenido en la tilapia del Nilo alimentada con alimento comercial adicionado con 17 $\alpha$ -metiltestosterona a diferentes tiempos. Para ello se evaluaron cinco tiempos (0, 10, 15, 20 y 25 días) de administración de hormona a una población mixta de tilapia del Nilo variedad Spring. Para cada tratamiento se utilizaron tres réplicas. Los alevines fueron sembrados a densidad de 0.5 alevines L<sup>-1</sup> en un sistema de recirculación cerrado. El cultivo consistió de 30 días en acuarios de acrílico de 85 L y 20 días en tanques exteriores de 1000 L. La determinación del sexo se realizó con la técnica de squash. El crecimiento se determinó por medio del peso húmedo y la longitud total obtenida de las biometrías. Los resultados indican una masculinización del 100% desde los 10 días de aplicación del esteroide, pero los mayores valores de crecimiento se observaron en los grupos que recibieron el esteroide por mayor tiempo. Los resultados muestran que no es necesario administrar el esteroide durante 30 días para lograr una masculinización del 100% en variedades domesticadas y que el esteroide tiene efecto positivo en la tasa de crecimiento de los alevines, persistiendo por algunas semanas después de terminado el tratamiento.

**Palabras clave:** Crecimiento, esteroide, masculinización, supervivencia, tiempos.

**ABSTRACT.** An alternative to reduce the use of hormones with an immediate application to Nile tilapia commercial culture, is the precise evaluation of masculinization duration in domesticated strains. The main objective of this work was to evaluate the percentage of masculinization and growth obtained in Nile tilapia fed with 17 $\alpha$ -methyltestosterone at different times during the fry period. For this, five times (0, 10, 15, 20 and 25 days) of application of the hormonal treatment were evaluated in a mixed population of Nile tilapia's Spring strain. For each treatment, three replicates were used. Fry were stocked at a density of 0.5 L<sup>-1</sup> in a recirculation system. Culture consisted of 30 days in 85 L acrylic aquaria and another 20 days in 1000 L exterior tanks. Squash technique was used for determination of sex. Growth was determined from wet weight and total length obtained in the biometrics. The results obtained indicated a 100% masculinization after 10 days of steroid application; but, the highest values in terms of growth rates were observed in the groups that received the steroid for the longest time. The results show that it is not necessary that the steroid is administered for 30 days to achieve a 100% masculinization in a domesticated line and that the steroid has a positive effect on the growth of the fry which persists for a few weeks after the end of the treatment.

**Key words:** Growth, masculinization, survival, steroid, times.

## INTRODUCCIÓN

Las tilapias pertenecen a la familia Cichlidae, entre sus representantes destacan la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), la tilapia azul (*O. aureus*) y la tilapia de Mozambique (*O. Mossambicus*); de estas especies, la tilapia del Nilo es la especie más importante en la acuicultura, debido a su rápido crecimiento y tolerancia a un amplio rango de temperaturas y salinidades (Tran *et al.* 2011). Sin embargo, alcanzar la uniformidad de talla al momento de la cosecha es complicado, por su maduración precoz, ya que dirigen una gran cantidad de energía a la actividad reproductiva, lo que afecta la cantidad de energía disponible para el crecimiento (Cnaani y Hulata 2008, Tran *et al.* 2011). Para contrarrestar este efecto se utilizan diferentes técnicas de cultivo entre las cuales destacan los cultivos de un solo sexo (monosexo) que buscan evitar y/o reducir la maduración precoz; siendo la reversión sexual mediante esteroides sexuales una de las técnicas más utilizadas actualmente a nivel comercial (Alcántar-Vázquez *et al.* 2014a, Vinarukwong *et al.* 2018, Chávez-García 2020).

La producción de poblaciones monosexo (compuestas exclusivamente por machos) mediante la reversión sexual ha permitido incrementar la rentabilidad de las granjas acuícolas, por la rápida tasa de crecimiento de los machos en comparación con las hembras y sobre todo porque se elimina el comportamiento sexual y territorial en ambos sexos (Desprez *et al.* 2003, Ponzoni *et al.* 2005). La aplicación de esteroides sexuales para alcanzar la reversión sexual se realiza principalmente con las dietas comerciales proporcionadas a los alevines después de la eclosión, antes de la diferenciación sexual, lo cual permite obtener hasta un 100% de machos (Jiménez y Arredondo 2000, Daza *et al.* 2005). Sin embargo, el uso de grandes volúmenes de esteroides sexuales para obtener poblaciones monosexo ha generado una creciente preocupación por parte de grupos ambientalistas, ya que la acumulación de esteroides en los cuerpos de agua cercanos a las granjas, puede alterar las proporciones sexuales de animales silvestres que habitan dichas zonas (Murray *et al.* 2016). De igual forma, un creciente número

de personas no desean consumir productos que han sido tratados con hormonas o substancias activas (Piferrer 2001, Müller y Hörstgen 2007, Leet *et al.* 2011). Lo anterior ha convertido a la masculinización en una técnica cada vez más controvertida, impulsando la búsqueda de técnicas como la producción de machos YY (Mair *et al.* 1997, Alcántar-Vázquez *et al.* 2014b). Sin embargo, la producción de machos YY no ha probado ser una solución a corto plazo como estaba planeada. Por lo que una solución de amplio alcance y de aplicación inmediata es la optimización de los protocolos utilizados para revertir el sexo, los cuales fueron diseñados sin conocer el periodo exacto donde ocurre la diferenciación sexual de la tilapia del Nilo (Guerrero 1975, Shelton *et al.* 1981) y probablemente sobreestiman la cantidad de tiempo necesario para completar la masculinización, especialmente en variedades altamente domesticadas, como la variedad Spring. Por lo que incorporar el conocimiento reportado en los últimos años sobre el proceso de diferenciación sexual de la tilapia del Nilo y especies relacionadas (Ijiri *et al.* 2008, Baroiller *et al.* 2009, Tao *et al.* 2013, Gennotte *et al.* 2014) al proceso de masculinización, podría resultar en una reducción del número de días necesarios para alcanzar un 100% de masculinización, lo cual permitirá reducir el uso de esteroides sexuales en el cultivo comercial, manteniendo los mismos rendimientos y asegurando un producto más amigable con el ambiente. Sin embargo, en los últimos años pocos estudios han abordado la optimización de los protocolos de masculinización, concentrándose principalmente en la dosis del esteroide (Rima *et al.* 2017, Singh *et al.* 2017, Sreenivasa y Prabhadevi 2018), la temperatura del agua (Khater *et al.* 2017, Teng *et al.* 2020), el color del acuario (Rebouças *et al.* 2014), el uso de complejos homeopáticos para mejorar la supervivencia (Dias-Neto *et al.* 2017) durante el proceso de masculinización, y el uso extractos de plantas como posibles agentes androgénicos (Yusuf *et al.* 2019). Solo Vinarukwong *et al.* (2018) reportan la evaluación del periodo de masculinización con 17 $\alpha$ -metildihidrotestosterona en dos variedades comerciales de tilapia del Nilo. Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar

el porcentaje de masculinización y el crecimiento obtenido en una variedad altamente domesticada de tilapia del Nilo, alimentada durante diferente número de días con alimento comercial adicionado con  $17\alpha$ -metiltestosterona.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del experimento

El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio acuícola y de la Unidad Experimental de Producción Acuícola (UEPA), ambos de la Universidad del Papaloapan (UNPA) campus Loma Bonita, Oaxaca, localizado en las coordenadas  $18^{\circ}06' \text{ LN}$  y  $95^{\circ}53' \text{ LO}$ , a una altura de 30 msnm.

### Alevines

Se utilizaron alevines de tilapia del Nilo variedad Spring de cinco días de edad (dde), provenientes de un laboratorio comercial productor de alevín, ubicado en el distrito de Tuxtepec, Oaxaca. Los alevines se trasladaron al Laboratorio de Acuicultura de la UNPA en una bolsa de plástico transparente con oxigenación. A su llegada se les aplicó un tratamiento con sal ( $> 35 \text{ ups}$ ) durante 10 min para evitar la introducción de parásitos externos al sistema. De igual forma, se evitaron cambios bruscos de temperatura ( $> 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

### Alimento hormonado

Para realizar la masculinización se utilizó alimento hormonado comercial tipo harina (El Pedregal<sup>®</sup> Silver Cup, 60 mg  $17\alpha$ -metiltestosterona), mientras que para el grupo control se utilizó alimento tipo harina del mismo diámetro pero sin hormona adicionada.

### Diseño experimental

Se evaluaron cuatro tiempos de aplicación (10, 15, 20 y 25 días) del alimento hormonado más un control (0), en una población mixta (hembras y machos) de tilapia del Nilo variedad Spring. Los tratamientos fueron designados H0, H10, H15, H20 y H25, indicando el tiempo que fueron alimentados

con la hormona (H). Se utilizaron tres réplicas por tratamiento distribuidas de manera aleatoria dentro del sistema experimental. Para el experimento se empleó un sistema de recirculación compuesto por 15 acuarios de acrílico (tres acuarios por cada tratamiento) con una capacidad de 85 L cada uno, con dos filtros, uno mecánico y un bio-filtro compuesto por bio-bolas. El experimento consistió de 30 días de cultivo en acuarios y otros 20 días de cultivo en estanques exteriores de 1000 L de capacidad.

### Siembra

Los alevines se sembraron a una densidad inicial de 0.5 alevines  $\text{L}^{-1}$  (43 alevines por acuario), con un fotoperiodo de 12 luz: 12 oscuridad. Se registró la temperatura del agua tres veces al día utilizando un termómetro analógico ( $\pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , Taylor<sup>®</sup>) para determinar la temperatura promedio diaria, con el fin de mantenerla en un rango de  $26\text{--}27 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### Alimentación de los alevines

Los alevines del grupo control y los tratamientos (H10, H15, H20 y H25) se alimentaron inicialmente con 0.15 g de alimento cada dos horas (8:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00 y 18:00). A partir de la segunda biometría, se hizo un ajuste con base en la biomasa obtenida y se proporcionó una ración del 10% de la biomasa total por réplica repartida en seis dosis diarias. El flujo de agua y aire dentro de los acuarios se cerró 10 min antes de alimentar a los alevines y 15 minutos después de alimentarlos, para facilitar el consumo de alimento. Se realizaron sifoneos y recambios de agua ( $\sim 20\%$ ) diarios para extraer los residuos del alimento no ingerido, las heces y los alevines muertos. La concentración de amonio se evaluó una vez por semana.

Para realizar las biometrías se colectó una muestra al azar del 25% de los peces por réplica de cada tratamiento y se registró el peso húmedo (PH) individual con una balanza digital (Ohaus<sup>®</sup>  $\pm 0.01$ ). La longitud total (LT) se obtuvo mediante una imagen digital usando el software ImageJ<sup>®</sup> (versión 1.36). Las biometrías se realizaron cada 10 días a partir del día de siembra hasta terminar el experimento (50 días). Al finalizar el periodo de alevín (30

días) se procedió a realizar el cambio de alimento. A ambos grupos se les suministró por el resto del experimento (20 días) alimento tipo migaja (53% proteína, Purina® Agribrands).

### Análisis de proporción de sexos

Para la determinación de sexos en cada uno de los tratamientos se empleó la técnica de squash propuesta por Guerrero y Shelton (1974), la cual consiste en extraer la góndada del juvenil para hacer una fijación en un porta-objetos en el cual se coloca la góndada, se le agregan un par de gotas de acetocarmín (HYCEL®), para posteriormente macerar con ayuda de un cubre-objetos de tal modo que la góndada se rompe permitiendo observar su estructura interna.

### Evaluación del crecimiento

La evaluación del crecimiento se realizó a partir del peso húmedo y longitud total obtenidas a partir de cada biometría. Los índices obtenidos en el presente experimento fueron:

Biomasa ganada en g:

$$BG = \text{Biomasa final} - \text{Biomasa inicial}$$

Tasa de crecimiento diario:

$$TCD = \left[ \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{días de cultivo}} \right]$$

Factor de condición:

$$FC = \left[ \frac{\text{Peso húmedo}(g)}{\text{Longitud total (cm)}^3} \right] \times 100$$

### Evaluación del factor de conversión alimenticia

El factor de conversión alimenticia (FCA) se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$FCA = \frac{\text{Alimento consumido}(g)}{\text{Ganancia en peso húmedo}(g)}$$

### Supervivencia

El porcentaje de supervivencia (S) se obtuvo al final del experimento mediante la fórmula:

$$S = \left[ \frac{\text{Peces cosechados}}{\text{Peces sembrados}} \right] \times 100$$

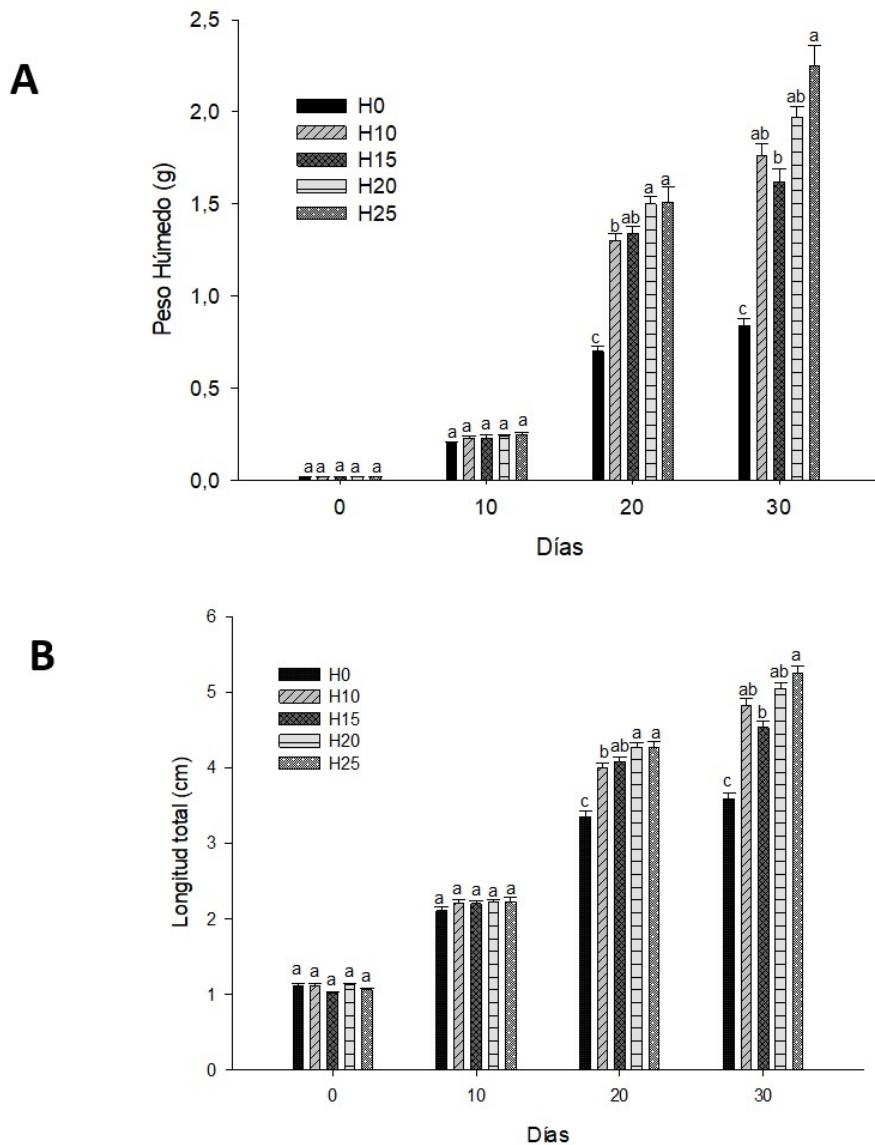
### Análisis estadísticos

Se verificaron los supuestos de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homocedasticidad (Levene). Las diferencias en peso húmedo, longitud total, así como los índices obtenidos (BG, TCE, FCA, FC) se evaluaron mediante un análisis de varianza de una vía. Las diferencias entre tratamientos se compararon mediante la prueba de Tukey a un nivel de significancia del 95%. La proporción de machos identificados en cada tratamiento se compararon contra la proporción de machos (1 macho: 1 hembra) esperada en desoves normales para tilapia del Nilo mediante una prueba de chi-cuadrada a un nivel de significancia del 99%. El porcentaje de supervivencia final entre tratamientos se transformó mediante la función arco-seno y se comparó mediante un análisis de varianza de una vía. Todos los análisis se realizaron con el programa STATISTICA V. 8.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos para el PH y LT durante el periodo de alevín se encuentran en la Figura 1 (A peso húmedo, B longitud total). Se observaron diferencias significativas en el PH a partir del día 20, con los grupos H20 y H25, presentando los valores significativamente más altos ( $p < 0.05$ ) en comparación con los grupos H10 y H0. Para el día 30 el grupo H25 registró los valores significativamente más altos ( $p < 0.05$ ) en comparación con los valores observados en los grupos H15 y H0. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos H10 y H20. Con respecto a la LT, para el día 20 se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos H20 y H25 con respecto a los grupos H10 y H0, registrando los primeros los mayores valores. Al día 30 se registraron los valores de longitud total significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) en el grupo H25 en comparación con los grupos H0 y H15. Por último, tanto a los 20 como a los 30 días el grupo H0 mostró los valores de PH y LT significativamente más bajos ( $p < 0.05$ ) en comparación con los grupos que consumieron el esteroide.

Los resultados del PH y LT durante el periodo juvenil se presentan en la Figura 2 (A Peso húmedo,

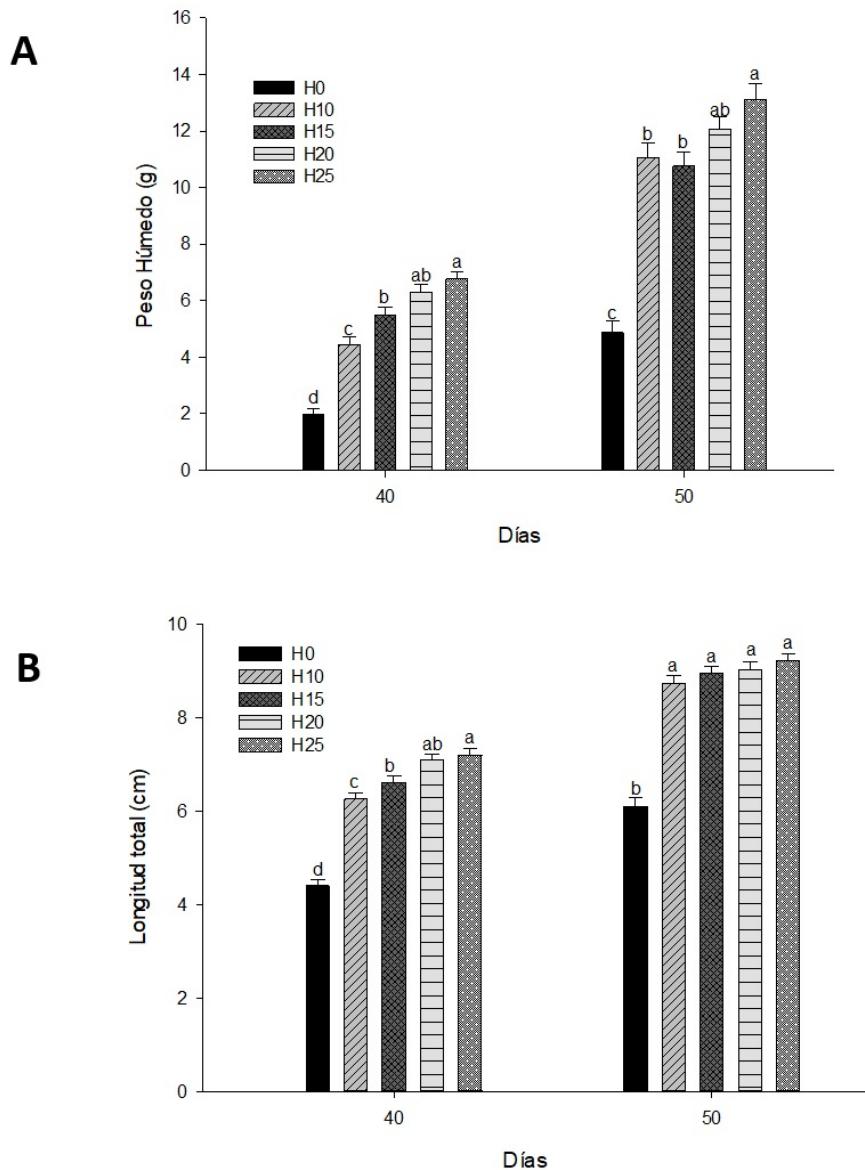


**Figura 1.** A.-Peso húmedo, B.- Longitud total obtenida durante el periodo de alevín en la tilapia del Nilo. La presencia de superíndices con diferente letra sobre las columnas indica diferencias significativas entre tratamientos para cada biometría ( $p < 0.05$ ).

B Longitud total). El incremento en PH registró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) a los 40 y 50 días, con el grupo H25 registrando los mayores valores en comparación con el grupo H0, H10 y H15. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre el grupo H25 y el grupo H20. El grupo H0 registró los valores significativamente ( $p > 0.05$ ) más bajos de PH durante el periodo en comparación con los grupos

alimentados con el esteroide.

La LT, al igual que el PH, registró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) a los 40 y 50 días. Entre los grupos masculinizados, a los 40 días el grupo H25 registró los valores significativamente ( $p < 0.05$ ) más elevados en comparación con grupos H10 y H15, mientras que a los 50 días no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos alimen-



**Figura 2.** A.-Peso húmedo, B.-Longitud total obtenida durante el periodo de juvenil en la tilapia del Nilo. La presencia de superíndices con diferente letra sobre las columnas indica diferencias significativas entre tratamientos para cada biometría ( $p < 0.05$ ).

tados con el esteroide (Figura 2B Longitud total). El grupo H0 registró los valores significativamente ( $p > 0.05$ ) más bajos de LT durante el periodo en comparación con los grupos alimentados con el esteroide.

Los resultados obtenidos para los índices de crecimiento se presentan en la Tabla 1. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre grupos para ninguno de los cuatro índices a los 10 días.

Los resultados obtenidos para BG y TCD registraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) a los 20 y 30 días, el grupo H0 mostró los valores el más bajos en comparación con los grupos tratados con el esteroide. Dentro de los grupos tratados no se registraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en ninguno de los grupos a los 20 días, mientras que a los 30 días el grupo H25 mostró los valores significativa-

**Tabla 1.** Biomasa ganada (BG), tasa de crecimiento diario (TCD), factor de conversión alimenticia (FCA) y factor de condición (FC) obtenidos en la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada durante diferentes tiempos con alimento comercial adicionado con el esteroide 17 $\alpha$ -metiltestosterona durante el periodo de alevín. Promedio  $\pm$  error estándar.

Índice	Tratamientos				
	H0	H10	H15	H20	H25
Día 10					
BG	7.90 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	10.35 $\pm$ 0.90 <sup>a</sup>	9.88 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>	10.82 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	10.75 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>
TCD	0.008 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>	0.009 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>	0.009 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>	0.009 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>	0.009 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>
FCA	1.06 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.05 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	1.05 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	1.02 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.04 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
FC	2.29 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	2.21 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	2.20 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	2.37 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	2.46 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>
Día 20					
BG	21.84 $\pm$ 1.77 <sup>b</sup>	51.54 $\pm$ 1.46 <sup>a</sup>	49.69 $\pm$ 3.26 <sup>a</sup>	57.25 $\pm$ 2.92 <sup>a</sup>	58.15 $\pm$ 7.33 <sup>a</sup>
TCD	0.020 $\pm$ 0.001 <sup>b</sup>	0.043 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>	0.046 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>	0.050 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>	0.051 $\pm$ 0.003 <sup>a</sup>
FCA	1.42 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.20 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.21 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.19 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.20 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
FC	2.01 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	2.12 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	2.10 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	2.03 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	2.07 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
Día 30					
BG	31.11 $\pm$ 4.91 <sup>c</sup>	79.46 $\pm$ 6.51 <sup>b</sup>	88.77 $\pm$ 4.02 <sup>b</sup>	102.92 $\pm$ 6.97 <sup>b</sup>	151.34 $\pm$ 5.76 <sup>a</sup>
TCD	0.028 $\pm$ 0.004 <sup>c</sup>	0.071 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>	0.080 $\pm$ 0.006 <sup>b</sup>	0.092 $\pm$ 0.006 <sup>b</sup>	0.135 $\pm$ 0.010 <sup>a</sup>
FCA	1.91 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	1.61 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>	1.44 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	1.45 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.23 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>
FC	2.63 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	1.93 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	1.96 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	1.81 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.96 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>
Día 40					
BG	12.24 $\pm$ 4.93 <sup>b</sup>	43.79 $\pm$ 11.79 <sup>ab</sup>	65.61 $\pm$ 19.16 <sup>ab</sup>	84.2 $\pm$ 7.86 <sup>a</sup>	60.42 $\pm$ 15.38 <sup>ab</sup>
TCD	0.023 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	0.055 $\pm$ 0.012 <sup>ab</sup>	0.086 $\pm$ 0.014 <sup>a</sup>	0.100 $\pm$ 0.011 <sup>a</sup>	0.076 $\pm$ 0.013 <sup>a</sup>
FCA	3.38 $\pm$ 1.53 <sup>a</sup>	2.36 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	1.97 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	1.62 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	2.53 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>
FC	2.76 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	1.95 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>	2.06 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>	1.84 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	1.91 $\pm$ 0.14 <sup>ab</sup>
Día 50					
BG	60.94 $\pm$ 11.79 <sup>b</sup>	212.96 $\pm$ 37.63 <sup>a</sup>	166.81 $\pm$ 17.79 <sup>ab</sup>	194.74 $\pm$ 29.41 <sup>a</sup>	200.87 $\pm$ 34.27 <sup>a</sup>
TCD	0.116 $\pm$ 0.016 <sup>b</sup>	0.265 $\pm$ 0.021 <sup>a</sup>	0.210 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.230 $\pm$ 0.019 <sup>a</sup>	0.254 $\pm$ 0.023 <sup>a</sup>
FCA	1.35 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.39 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	1.65 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	1.72 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	1.71 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
FC	2.58 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	1.76 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	1.56 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	1.78 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	1.72 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>

H0 = control, H10 = alimentado 10 días con el esteroide, H15 = alimentado 15 días con el esteroide, H20 = alimentado 20 días con el esteroide, H25 = Alimentado 25 días con el esteroide. Valores marcados con subíndices con distinta letra dentro del mismo renglón indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

mente más altos en comparación con el resto de los grupos tratados. En lo que respecta al FCA, el grupo H0 registró los valores significativamente ( $p < 0.05$ ) mayores a los 20 y 30 días en comparación con los grupos tratados con el esteroide. Entre los grupos tratados, no se registraron diferencias significativas a los 20 días, mientras que a los 30 días el grupo H25 registró un valor significativamente ( $p < 0.05$ ) más bajo en comparación con los grupos H10 y H20. Por último, el FC no mostró diferencias significativas a los 20 días entre el grupo H0 y los grupos tratados con el esteroide. Pero a los 30 días el valor observado en el grupo H0 fue significativamente ( $p < 0.05$ ) mayor en comparación con los grupos alimentados con el esteroide. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre ninguno de los grupos alimentados con el esteroide a 20 o 30 días (Tabla 1).

A los 40 días, el grupo H0 mostró un valor de BG significativamente ( $p < 0.05$ ) más bajo en com-

paración con el observado en el grupo H20, mientras que para el final del experimento (50 días), fue significativamente ( $p < 0.05$ ) más bajo en comparación a los grupos H20 y H25. Al igual que la BG, la TCD mostró valores significativamente ( $p < 0.05$ ) más bajos para el grupo H0, tanto a 40 como a 50 días, en comparación con los grupos alimentados con el esteroide. Entre los grupos tratados no se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la TCD a 40 o 50 días.

En lo que respecta al FCA no se observaron diferencias significativas entre ninguno de los grupos analizados a 40 o 50 días. Por último, el valor del FC observado para el grupo H0 fue significativamente ( $p < 0.05$ ) más alto a los 40 días en comparación con el grupo H20, mientras que para el final del experimento, el FC del grupo H0 mostró un valor significativamente ( $p < 0.05$ ) más alto en comparación con los grupos alimentados con el esteroide. No se

registraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos tratados a 40 o 50 días (Tabla 1).

Los resultados obtenidos de la proporción de sexos y supervivencia final se presentan en el Tabla 2. Se observó una proporción de machos significativamente ( $p < 0.001$ ) más alta en todos los grupos que recibieron el esteroide, en comparación con la proporción de machos esperada para un desove de tilapia del Nilo sin masculinizar (50% de machos). En lo que respecta a la supervivencia final, se obtuvo un valor significativamente ( $p < 0.05$ ) más alto para el grupo H20 en comparación con el grupo control. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los grupos alimentados con el esteroide.

**Tabla 2.** Proporción de sexos y porcentaje de supervivencia final (SF) en juveniles de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados durante diferentes tiempos con alimento comercial adicionado con el esteroide 17 $\alpha$ -metiltestosterona durante el periodo de alevín. Promedio  $\pm$  error estándar.  $n = 3$ .

Tratamiento	NPA*	Proporción de sexos (%)		SF (%)
		Machos	Hembras	
H0	30	60	40	81.1 $\pm$ 4.20 <sup>b</sup>
H10	30	100 <sup>1</sup>	0	93.3 $\pm$ 1.28 <sup>ab</sup>
H15	30	100 <sup>1</sup>	0	93.2 $\pm$ 3.94 <sup>ab</sup>
H20	30	97 <sup>1</sup>	3	97.7 $\pm$ 2.27 <sup>a</sup>
H25	30	100 <sup>1</sup>	0	92.6 $\pm$ 4.12 <sup>ab</sup>

\*NPA = número de peces analizados. <sup>1</sup>Significativamente diferente ( $p < 0.001$ ) de la proporción de machos esperada. Valores marcados con superíndices con distinta letra dentro de la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

La edad de los alevines utilizados garantiza que la aplicación del esteroide tuvo un nivel óptimo en la sangre antes de llegar a los 10 días de edad. Al respecto, Vera-Cruz *et al.* (1996) recomiendan que los alevines deben tener un tamaño menor a 10 mm antes de iniciar el proceso de masculinización, para asegurar porcentajes cercanos al 100%, mientras que Melard y Philippart (1995) sugieren alimentar a los alevines por 12 horas para mejorar la asimilación del esteroide. En el caso de la tilapia del Nilo, Hiott y Phelps (1993) evaluaron aspectos relacionados con la talla de inicio y el éxito en la reversión sexual, llegando a la conclusión que la talla óptima para asegurar un porcentaje cercano al 100% de

masculinización es menor a los 11 mm. En el presente trabajo los alevines utilizados tuvieron una talla inicial de 10 mm y se alimentaron seis veces al día por 12 horas, lo que influyó en una masculinización del 100% en el tratamiento H10.

El andrógeno utilizado mostró efectos significativos sobre la composición sexual de las poblaciones de peces tratados. El porcentaje de eficiencia logrado con el método de reversión oral en los grupos alimentados a diferentes tiempos se puede considerar exitoso, ya que de acuerdo a Phelps (2001) una masculinización exitosa mediante andrógenos debe tener un porcentaje de machos mínimo del 97%. Lo que confirma que para tener una reversión sexual exitosa se debe abarcar solo el periodo lóbil de la especie, el cual en el caso de la tilapia del Nilo se presenta alrededor de los cinco (en hembras) a seis (en machos) días después de la eclosión (Ijiri *et al.* 2008, Tao *et al.* 2013). Los elevados niveles de 17 $\alpha$ -metiltestosterona (MT) mantenidos durante los primeros 10 días de permitieron obtener 100% de machos, lo que indica que esta duración (para el tratamiento hormonal) es suficiente para suprimir la acción el gen *cyp19a* (responsable de producir la enzima aromatasa, la cual permite la diferenciación ovárica), mediante la estimulación del gen *dmrt1* que está involucrado en la diferenciación testicular (Bhandari *et al.* 2006, Ijiri *et al.* 2008). En este sentido, Tao *et al.* (2013) reportan a los cinco días de la presencia en gónadas XX (hembras) de receptores de andrógenos (*ar1* y *ar2*), los cuales se unen al esteroide suministrado oralmente, favoreciendo el proceso de masculinización. Los resultados encontrados concuerdan con lo reportado por Vinarukwong *et al.* (2018) en dos variedades domesticadas de tilapia del Nilo cultivadas en Tailandia, donde con solo 15 días de tratamiento tuvieron 100% de masculinización. En este caso, la duración de 5 y 10 días, tuvieron entre el 82 y 90% de masculinización, respectivamente. La variación en los porcentajes obtenidos probablemente obedece a las variedades utilizadas y al esteroide empleado, ya que en este caso se utilizó 17 $\alpha$ -metildihidrotestosterona a concentración de 80 mg por kg de alimento. Los resultados obtenidos indican que hormonar de 28 a 40 días no tiene efecto signifi-

ficativo en la proporción de machos obtenidos. El 3% de hembras observado en el tratamiento con la aplicación de MT por 20 días (H2O), probablemente fue causado por factores genéticos parentales (Alcántar-Vázquez *et al.* 2015), como por ejemplo, una insensibilidad genética al efecto de la hormona, o bien al muestreo realizado.

La razón de un periodo de masculinización largo en el cultivo comercial de la tilapia del Nilo, se puede deber a que por lo general los desoves provienen de decenas o cientos de hembras, lo cual puede representar una alta variación en edades (de horas a días) de los alevines que entran al proceso de reversión sexual. Al respecto, la mayoría de los estudios donde se establece el periodo de masculinización óptimo para esta especie son mayores a 25 años (Shelton *et al.* 1981, Hiott y Phelps 1993), lo cual no toma en cuenta la caracterización precisa a nivel genético del desarrollo embrionario y larval de la tilapia del Nilo (Ijiri *et al.* 2008, Baroiller *et al.* 2009, Tao *et al.* 2013, Gennotte *et al.* 2014), lo que ha permitido determinar los periodos de desarrollo claves para una reversión sexual exitosa, y la extensiva selección artificial y domesticación a la que ha sido sometida la especie en las últimas décadas, lo que ha permitido la aparición de un gran número de variedades genéticas altamente específicas para diferentes requerimientos de cultivo (Fitzsimmons *et al.* 2011). Por lo general, estas nuevas variedades o líneas genéticas son desarrolladas a partir de pocas hembras reproductoras, lo que permite uniformizar su comportamiento social y reproductivo. Si a lo anterior, se le suma la optimización a nivel comercial de los procesos de manejo y reversión sexual, es factible reducir el periodo de masculinización ajustándolo al conocimiento actual y a la domesticación reproductiva de la tilapia del Nilo. El hecho de que el desove utilizado en el presente trabajo fuera adquirido a un laboratorio comercial en lugar de uno generado en nuestras instalaciones con reproductores experimentales, apoya la idea de que es factible reducir el tiempo necesario para alcanzar una masculinización del 100% en los laboratorios comerciales del país, los cuales utilizan variedades genéticas altamente domesticadas. Ha este respecto,

Osure y Phelps (2006) reportan diferencias significativas en aspectos reproductivos y de crecimiento en cuatro variedades genéticas de tilapia del Nilo con diferente grado de domesticación.

Se sabe que temperaturas mayores de 34 °C tienen un efecto masculinizante en la tilapia del Nilo. En este sentido, Wang y Tsai (2000) reportan que la exposición de alevines de tilapia del Mozambique de 10 días de edad a temperaturas de 32-34 °C puede en algunos casos inducir masculinización gonadal e incrementar la proporción de machos. Lo anterior, es posible porque la determinación del sexo fenotípico en varias especies de tilapia, incluida tilapia del Nilo es un rasgo complejo, el cual no solo es determinado por factores genéticos primarios (locus XX/XY); sino que es producto de la interacción de estos factores genéticos primarios, con factores genéticos secundarios (efectos parentales) y factores ambientales (Wang y Tsai 2000, Baroiller *et al.* 2009), en especial la temperatura del agua durante el periodo de alevín. Trabajos previos han observado una tendencia genética hacia la masculinización de las gónadas a temperaturas moderadamente elevadas ( $28 \pm 1$  °C), lo cual ha resultado en una proporción de machos elevada en varios grupos durante el proceso de reversión sexual (Wessels y Hörstgen-Schwark 2007, Alcántar-Vázquez *et al.* 2014b). En el presente trabajo la temperatura del agua se mantuvo entre 26 y 27 °C durante todo el tratamiento con MT con la intención de reducir el posible efecto de la temperatura del agua en la proporción de machos obtenida, para que esta manera los porcentajes de machos observados fueran el resultado del efecto del esteroide suministrado durante el periodo de alevín y no de la interacción de la gónada en diferenciación con la temperatura del agua. En este sentido, es importante mencionar que aunque el grupo control registró un porcentaje de machos del 60%, en lugar del 50% esperado, este tipo de porcentajes son normalmente observados en la tilapia del Nilo y son atribuidos a factores genéticos parentales (producto de la cría de machos y hembras normales) (Baroiller *et al.* 2009) y no al efecto de la temperatura del agua durante el periodo lúbril.

Al término del experimento se obtuvo un

crecimiento significativamente superior en los grupos tratados con MT en comparación con grupo control, lo cual apoya lo observado por diversos autores en varias especies de tilapia (Hafeez-ur-Rehman *et al.* 2014, Ajiboye *et al.* 2015, Rima *et al.* 2017, Singh *et al.* 2018, Chávez-García *et al.* 2020). Sin embargo, no todos los autores reportan diferencias en el crecimiento (Jiménez y Arredondo 2000, Torres-Hernández *et al.* 2010, Vinarukwong *et al.* 2018), especialmente al utilizar otro esteroide. El efecto anabólico resultante del uso de andrógenos en la masculinización de la tilapia del Nilo parece ser casi exclusivo de la MT, sin embargo, en algunos casos puede ser difícil de identificar. La mayoría de los estudios que han analizado mejoras en el crecimiento de los peces revertidos sexualmente en comparación con los no tratados, lo hacen comparando el crecimiento de las poblaciones compuestas exclusivamente por peces machos contra una población sexual mixta, en la cual las hembras presentes muestran una tasa de crecimiento menor. En el presente trabajo, en el grupo control se obtuvo un 40% de hembras, siendo este el grupo de los peces más pequeños al final del experimento. Lo anterior, puede ser explicado por la mayor proporción de hembras, que crecen más lento y son menos agresivas a la hora de alimentarse. Al respecto, Phelps y Popma (2000) mencionan que cualquier crecimiento mejorado de la tilapia tratada con andrógenos está más relacionado con el crecimiento superior de los machos que con la respuesta anabólica relacionada con el aumento de la síntesis de proteínas y el aumento de músculo. Mientras que Phumyu *et al.* (2012) reportan que en la tilapia del Nilo los peces revertidos con MT muestran un crecimiento similar al de los machos, sin embargo, las hembras alimentadas con el alimento adicionado con el esteroide muestran un mejor crecimiento y una mejor eficiencia alimenticia, lo cual se atribuye a características del tracto gastrointestinal.

A pesar del número de hembras observado en el grupo control, el número de días que se proporcionó la MT tuvo un efecto en el crecimiento, ya que los grupos que recibieron el esteroide por 20 y 25 días fueron los que presentaron un mejor crecimiento durante el proceso de masculinización y al finalizar

el experimento. Lo que indica que el efecto del esteroide sobre el metabolismo del pez puede durar por varias semanas, incluso meses después de terminado el periodo de reversión sexual, ya que trabajos realizados con MT parecen confirmar lo anterior (Hafeez-ur-Rehman *et al.* 2014, Ajiboye *et al.* 2015, Singh *et al.* 2018, Chávez-García *et al.* 2020). Los resultados obtenidos para la BG y TCD apoyan la idea de que el efecto anabólico del esteroide pudo haber contribuido en los resultados observados, optimizando la absorción de nutrientes que se reflejó en un crecimiento somático mejorado. Aunque es posible que la diferencia en la tasa de crecimiento entre sexos, reportada para la tilapia del Nilo, pueda ser responsable de las diferencias observadas. En el presente trabajo, al finalizar el experimento la ausencia de un crecimiento gonadal que se observó al extraer las gónadas para realizar la técnica de squash, indica que la maduración sexual no se había presentado y por lo tanto los esteroides sexuales producidos naturalmente (endógenos), que son los que permiten en gran medida las diferencias entre sexos, no se encontraban presentes en cantidad suficiente en la sangre como para ser un factor importante.

El factor de condición (FC) puede indicar el estado nutritivo de los organismos, definido por la cantidad de energía poseída (contenido de grasa disponible) en los peces para llevar a cabo varias funciones, incluido el crecimiento y la reproducción (Neff y Cargnelli 2004, Gupta *et al.* 2012). El factor de condición también se puede usar para evaluar el estado fisiológico bajo un estresante potencial (Cifuentes *et al.* 2012), como lo es un alevín de tilapia del Nilo alimentado con un esteroide sexual. Se observó en general un FC más bajo en los peces de grupos tratados con MT en comparación con los peces del grupo control. Al respecto, Cifuentes *et al.* (2012) mencionan que esta disminución podría interpretarse como el agotamiento de las reservas de energía almacenadas como glucógeno del hígado o grasa corporal. El rápido crecimiento de los alevines masculinizados en comparación con los del grupo control podría explicar porque la grasa corporal (energía de reserva) era menor en estos grupos y por lo tanto el FC. Para la tilapia del Nilo y sus híbridos bajo un

desarrollo óptimo se han reportado valores cercanos a 2.0 (Fish Breeding Association 2003, El-Saidy y Gaber 2005, Gupta *et al.* 2012), similares a los observados en el presente experimento, lo que indica el buen desarrollo de los tratamientos evaluados.

La supervivencia obtenida al final de un experimento de masculinización depende de factores como la especie, la concentración del esteroide, el tiempo de inicio y la duración del tratamiento (Piferrer 2001). Los cuales pueden influir en la mortalidad durante la etapa de reversión sexual, después de que termine la reversión y hasta al final del experimento. Una de las razones por lo cual la MT es tan utilizada, además de sus altas tasas de reversión sexual, es que por lo general no ocasiona efectos negativos en la supervivencia (El-Greisy y El-Gamal 2012, Rima *et al.* 2017, Singh *et al.* 2018) si se emplea en concentraciones menores a  $60 \text{ mg Kg}^{-1}$  (El-Greisy y El-Gamal 2012, Jensi *et al.* 2016). En nuestro caso, la supervivencia final observada fue más alta en los grupos expuestos al esteroide en comparación con el grupo control. Pero la mortalidad observada en el grupo control probablemente esté relacionada más al manejo que a un efecto positivo de la MT, ya que para el experimento se implementó un protocolo de cultivo que involucró 30 días de cultivo en acuarios de 85 L y otros 20 días de cultivo en estanques exteriores de 1000 L de capacidad. El traslado de los alevines y el cambio de alimento al final del periodo de alevín, no fueron bien aceptados por el grupo control, probablemente por el menor tamaño en comparación con los grupos alimentados con el esteroide, lo cual derivó en una mayor mortalidad durante los días que siguieron a los cambios mencionados. Lo

que se puede apoyar en el hecho de que al final del periodo de alevín, previo al cambio de estanque y de dieta, la supervivencia del grupo control se mantuvo por encima del 90%, al igual que la de los grupos tratados con MT. En experimentos futuros será necesario optimizar el protocolo de manejo y cultivo, para reducir la probabilidad de una mortalidad como la observada en el grupo control.

## CONCLUSIONES

Los resultados indican que un tratamiento con 10 días es suficiente para inducir una reversión del 100% en variedades domesticadas de tilapia del Nilo como lo es la variedad Spring. La reducción de la duración del periodo de masculinización podría ayudar a reducir el uso de hormonas exógenas en el cultivo comercial y reducir su presencia en los efluentes de las granjas productoras de alevín. Sin embargo, el esteroide suministrado tiene un efecto anabólico positivo sobre los parámetros de crecimiento de los peces tratados, el cual perdura por semanas después de acabado el tratamiento, lo cual podría ser un incentivo para que los laboratorios productores de alevín masculinizado ofrecieran el esteroide por mayor tiempo.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo fue apoyado por la Universidad del Papaloapan bajo el proyecto interno FO-UNPA/0001/19, y el personal técnico del Laboratorio de Acuicultura.

## LITERATURA CITADA

- Ajiboye OO, Okonji VA, Yakubu AF (2015) Effect of testosterone-induced sex reversal on the sex ratio, growth enhancement and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed coppens and farm produced feed in a semi flow-through culture system. *Fisheries and Aquaculture Journal* 6: 123.
- Alcántar-Vázquez JP, Santos-Santos C, Moreno-de la Torre R, Antonio-Estrada C (2014a) Manual para la producción de supermachos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Sistema de Universidades Estatales de Oaxaca (SUNEO)-Universidad del Papaloapan (UNPA). 81p.
- Alcántar-Vázquez JP, Moreno-de la Torre R, Calzada-Ruiz D, Antonio-Estrada C (2014b) Production of YY-male

- of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) from atypical fish. Latin American Journal of Aquatic Research 42: 644-648.
- Alcántar-Vázquez JP, Rueda-Curiel P, Calzada-Ruiz D, Antonio-Estrada C, Moreno-de la Torre R (2015) Feminization of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* by estradiol-17 $\beta$ . Effects on growth, gonadal development and body composition. Hidrobiológica 25: 275-283.
- Bhandari RK, Nakamura M, Kobayashi T Nagahama Y (2006) Suppression of steroidogenic enzyme expression during androgen-induced sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). General and Comparative Endocrinology 145: 20-24.
- Baroiller JF, D'Cotta H, Bezault E, Wessels S, Hoerstgen-Schwark G (2009) Tilapia sex determination: where temperature and genetics meet. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 153: 30-38.
- Cifuentes R, González J, Montoya G, Jara A, Ortiz N, Piedra P, Habit E (2012) Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuenca del río Valdivia, Chile). Gayana 76: 86-100.
- Chávez-García R, Contreras-Ramos A, Ortega-Camarillo C, Figueroa-Lucero G, Prado-Flores G, Mendoza-Martínez G, Vergara-Onofre M (2020) Morphometric comparison of the growth curve in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) sexually reverted to masculinized and feminized. Latin American Journal of Aquatic Research 48: 1-6.
- Cnaani A, Hulata G (2008) Tilapias. In: Kocher TD, Kole C (eds.) Genome mapping and genomics in fishes and aquatic animals. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. pp: 101-116.
- Daza VP, Parra L, Ochoa S (2005) Reproducción de los peces del trópico. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 241p.
- Desprez D, Mérillard DC, Hoareau MC, Bellemene Y, Bosc P, Baroiller JF (2003) Inheritance of sex in two ZZ pseudofemales lines of tilapia *Oreochromis aureus*. Aquaculture 218: 131-140.
- Dias-Neto J, Ramos-Valladão GM, De Oliveira-Viadanna PH, Pilarski F (2017) Homeopathic complex increases survival without affecting the performance of Nile tilapia during masculinization. Journal of Applied Aquaculture 29: 33-45.
- El-Greisy ZA, El-Gamal AE (2012) Monosex production of tilapia, *Oreochromis niloticus* using different doses of 17 $\alpha$ -methyltestosterone with respect to the degree of sex stability after one year of treatment. Egyptian Journal of Aquatic Research 38: 59-66.
- El-Saidy DMSD, Gaber MMA (2005) Effect of dietary protein levels and feeding rates on growth performance, production traits and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) cultured in concrete tanks. Aquaculture Research 36: 163-171.
- Fish Breeding Association (2003) Technical Handbook 2003. Fish Breeding Association. Israel. 106p.
- Fitzsimmons K, Martínez-García R, González-Alanís P (2011) Why tilapia is becoming the most important food fish on the planet. In: Liping L, Fitzsimmons K (eds.) Proceedings of the Ninth International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Shanghai Ocean University, Shanghai, China. pp: 22-24.
- Gennotte V, Mérillard C, D'Cotta H, Baroiller JF, Rougeot C (2014) The sensitive period for male-to-female sex reversal begins at the embryonic stage in the Nile tilapia and is associated with the sexual genotype. Molecular Reproduction and Development 81: 1146-1158.
- Guerrero RD, Shelton WL (1974) An acetocarmine squash method for sexing juvenile fishes. Progressive Fish-Culturist 36: 56-64.

- Guerrero RD (1975) Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea*. Transaction of the American Fisheries Society 104: 342-348.
- Gupta N, Haque MM, Khan M (2012) Growth performance of tilapia fingerling in cage in ponds managed by Adiavasi households: an assessment through length-weight relationship. Journal of the Bangladesh Agricultural University 10: 149-155.
- Hafeez-ur-Rehman M, Ahmed I, Ashraf M, Abbas F, Javed-Iqbal K (2014) The culture performance of 17- $\alpha$ -methyltestosterone treated tilapia (*Oreochromis niloticus*) in fertilized ponds. Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences 51: 209-213.
- Hiott AE, Phelps RP (1993) Effects of initial age and size on sex reversal of *Oreochromis niloticus* fry using methyltestosterone. Aquaculture 112: 101-108.
- Ijiri S, Kaneko H, Kobayashi T, Wang D, Sakai F, Paul-Prasanth B, Nakamura M, Nagahama Y (2008) Sexual dimorphic expression of genes in gonads during early differentiation of a teleost fish, the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Biology of Reproduction 78: 333-341.
- Jensi A, Karal-Marx K, Rajkumar M, Jeya-Shakila R, Chidambaram P (2016) Effect of 17  $\alpha$ -methyltestosterone on sex reversal and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L., 1758). Ecology, Environment and Conservation 22: 1493-1498.
- Jiménez BML, Arredondo JL (2000) Manual técnico para la reversión sexual de tilapia. Serie Desarrollos Tecnológicos. Universidad Autónoma Metropolitana. México. 36p.
- Khater EG, Ali SA, Mohamed WE (2017) Effect of water temperature on masculinization and growth of Nile tilapia fish. Journal of Aquaculture Research & Development 8: 9. Doi: 10.4172/2155-9546.1000507.
- Leet JK, Gall HE, Sepulveda MS (2011) A review of studies on androgen and estrogen exposure in fish early life stages: effects on gene and hormonal control of sexual differentiation. Journal of Applied Toxicology 31: 379-398.
- Mair GC, Abucay JS, Skibinski DOF, Abella TA, Beardmore JA (1997) Genetic manipulation of sex ratio for the large-scale production of all-male tilapia, *Oreochromis niloticus*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 54: 396-404.
- Melard CJ, Philippart JC (1995) Production of a high percentage of male offspring with 17 $\alpha$ -ethynodiol sex-reversed *Oreochromis niloticus*. I. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudofemales. Aquaculture 130: 25-34.
- Müller BA, Hörstgen SG (2007) A YY-male *Oreochromis niloticus* strain developed from an exceptional mitotic gynogenetic male and growth performance testing of genetically all-male progenies. Aquaculture Research 38: 773-775.
- Murray MC, Easter M, Merchant M, Rheubert JL, Wilson KA, Cooper A, Mendonça M, Wibbels T, Sasa-Marin M, Guyer C (2016) Methyltestosterone alters sex determination in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). General and Comparative Endocrinology 236: 63-69.
- Neff BD, Cargnelli LM (2004) Relationships between condition factors, parasite load and paternity in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. Environmental Biology of Fishes 71: 297-304.
- Osure GO, Phelps RP (2006) Evaluation of reproductive performance and early growth of four strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L) with different histories of domestication. Aquaculture 253: 485-494.
- Phelps RP (2001) Sex Reversal: the directed control of gonadal development in tilapia. In: Meyer DE (eds.) Sexto Simposio Centroamericano de Acuacultura. Tegucigalpa, Honduras. pp: 35-60.

- Phelps RP, Popma TJ, (2000) Sex reversal of tilapia. In: Costa-Pierce BA, Rakocy JE (eds.) *Tilapia Aquaculture in the Americas*, Vol. 2. The World Aquaculture Society. Louisiana, USA. pp: 34-59.
- Piferrer F (2001) Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture* 197: 229-281.
- Phumyu N, Boonanuntanasarn S, Jangprai A, Yoshizaki G, Na-Nakorn U (2012) Pubertal effects of 17 $\alpha$ -methyl-testosterone on GH-IGF-related genes of the hypothalamic-pituitary-liver-gonadal axis and other biological parameters in male, female and sex-reversed Nile tilapia. *General and Comparative Endocrinology* 177: 278-292.
- Ponzoni RW, Hamzah A, Tan S, Kamaruzzaman N (2005) Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 247: 203-210.
- Rebouças PM, dos Santos-Rocha R, Chagas-da Silva M, Barbosa-Filho JAD, Lobo-Farias WR, Silveira-Pinto CS, de Castro-Henrique J (2014) Influence of environmental color on zootechnical performance and feeding behavior during masculinization of Nile tilapia. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology* 2: 126-130.
- Rima NN, Rahman M, Sarker J (2017) Optimization of 17-alpha methyltestosterone (MT) hormone dose during masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fry. *Journal of Noakhali Science and Technology University (JNSTU)* 1: 35-41.
- Shelton WL, Guerrero DR, Macias JL (1981) Factors affecting androgen sex reversal of *Tilapia aurea*. *Aquaculture* 25: 59-65.
- Singh E, Saini VP, Sharma OP (2018) Orally administered 17  $\alpha$  methyl testosterone at different doses on the sex reversal of the red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 6: 301-305.
- Sreenivasa V, Prabhadevi L (2018) Optimization of hormone induced all male production of *Oreochromis niloticus* under laboratory condition at Ambo, Ethiopia. *Acta Scientific Agriculture* 2: 16-21.
- Tao W, Yuan J, Zhou L, Sun L, Sun Y, Yang S, Li M, Zeng S, Huang B, Wang D (2013) Characterization of gonadal transcriptomes from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reveals differentially expressed genes. *PLoS ONE* 8: e63604. Doi: 10.1371/journal.pone.0063604.
- Teng J, Zhao Y, Chen HJ, Wang H, Ji XS (2020) Transcriptome profiling and analysis of genes associated with high temperature-induced masculinization in sex-undifferentiated Nile tilapia gonad. *Marine Biotechnology* 22: 367-379.
- Torres-Hernández P, Nucamendi-Rodríguez GB, Pintos-Terán P, Montoya-Márquez JA (2010) Masculinización de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) por inmersión en fluoximesterona y testosterona enantato. *Zootecnia Tropical* 28: 341-351.
- Tran LD, Dinh TV, Ngo TP Fotedar R (2011) Tilapia. In: Fotedar RK, Phillips BF (eds.) *Recent advances and new species in aquaculture*. Blackwell Publishing Ltd. Iowa, USA. pp: 319-333.
- Vera-Cruz ME, Mair CG, Marino OR (1996) Feminization of genotypically YY Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Asian Fisheries Science* 9: 161-167.
- Vinarukwong N, Lukkana M, Wongtavatchai J (2018) Decreasing duration of androgenic hormone feeding supplement for production of male monosex in tilapia (*Oreochromis* spp.) fry. *The Thai Journal of Veterinary Medicine* 48: 375-383.
- Wang LH, Tsai CL (2000) Effects of temperature on the deformity and sex differentiation of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Experimental Zoology* 286: 534-537.

Wessels S, Hörstgen-Schark G (2007) Selection experiments to increase the proportion of males in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by means of temperature treatment. Aquaculture 272: 80-87.

Yusuf NS, Andayani S, Risjani Y, Faqih R (2019) Feed enriched with methanol extract of pasak bumi *euonymus longifolia* jack root for masculinization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Bioflux 12: 1481-1492.