

Reversión sexual en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante la aplicación de la hormona masculinizante 17 α -metiltestosterona en alevines ginogenéticos

DOI : 10.53358/ideas.v3i2.631

Diego Tocaín¹, Lennys Berutti², Eleonora Layana¹ ¹Universidad Técnica del Norte. Ibarra – Ecuador.
² Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Ibarra - Ecuador. adiegotb@gmail.com, lbberutti@pucesi.edu.ec,
emlayana@utn.edu.ec

RESUMEN

En la producción de trucha arcoíris existe un dimorfismo sexual notable en tamaño, ganancia de peso y calidad de la carne, por lo cual es necesario obtener cardumes monosexos, genotípicamente hembras, pero capaz de producir semen y comportarse como machos funcionales. Existen varios métodos de control sexual, tales como, irradiación de rayos ultravioleta en el esperma, choques térmicos, y presión, los cuales producen alevines ginogenéticos, económicamente deseables dentro de esta especie de salmónidos. El objetivo de esta investigación fue evaluar el porcentaje de reversión sexual (masculinización) en la trucha arcoíris con diferentes dosis de hormona. El mayor porcentaje de reversión del grupo experimental se obtuvo aplicando 3mg de 17 α -metiltestosterona por cada kg de alimento, suministrado durante 60 días, después de este período de alimentación continuaron con su dieta normal hasta el final del experimento. Los resultados reportaron que con este tratamiento el 86% de las hembras del grupo experimental se masculinizaron y 14% presentaron intersexo. Se realizó también la caracterización física de la especie en función del peso y talla durante el tiempo de crecimiento y desarrollo y se concluyó que a lo largo de su crecimiento si existió una interacción entre días de crecimiento y aplicación de la hormona.

Palabras claves: Truchas, reversión sexual, masculinización, hormona, 17 α -metiltestosterona

Introducción

Ecuador es uno de los países con mayor biodiversidad en el mundo por los diferentes pisos climáticos que posee. Esto le ha permitido desarrollar diferentes especies de interés agrícola, pecuario y acuícola, destacándose en la producción de truchas, cultivo que se ha intensificado y fortalecido en los últimos años (Banco Nacional de Fomento [BNF], 2016). Sin embargo, en este salmónido, durante su crecimiento y posterior cosecha se pueden apreciar diferencias entre macho y hembra asociadas al dimorfismo sexual. En las épocas de reproducción los machos secretan enzimas que le otorgan un sabor amargo a la carne, además de ser más agresivos por lo que provocan lesiones a las hembras y son más propensos a enfermedades por hongos (Arai, 2000). En las hembras se presenta una disminución del crecimiento y pierden el 30% de su peso corporal en el desarrollo gonadal. Esto significa que durante la madurez sexual los salmónidos no ocupan su energía metabólica en la producción de carne, sino en la formación y maduración de sus gónadas. Por este motivo la tasa de crecimiento somático es baja. Otro aspecto negativo se asocia a la maduración sexual, que en el macho transcurre entre los 7 y los 12 meses y en la hembra a los 24 meses (Pérez, et al., 1999).

En la actualidad algunas técnicas biotecnológicas proporcionan ventajas que inciden en el crecimiento y el manejo de esta especie. La técnica más recomendada es la ginogénesis en donde se produce un efecto de esterilidad que inactiva el esperma mediante tratamientos previos a la fertilización y permite utilizarlo únicamente para iniciar el desarrollo del huevo (Benavides, et al., 2012). Esto se logra a través de la manipulación cromosómica mediante choque térmico para obtener individuos triploides (Pineda, 2003).

Mejía y Román (2009), demostraron que es posible optimizar la producción generando poblaciones monosexo (solo hembras), bajo manejo hormonal. Esto se logra aplicando una hormona masculina para que los individuos genotípicamente hembras trocasen a machos para ser utilizados como reproductores en el cruce con hembras normales, de este modo se produciría una población de solo hembras. Como se muestra, en este procedimiento el uso de estrógenos es indirecto ya que la masculinización de las hembras permite

obtener machos homogaméticos (XX), que se comportan fenotípicamente como machos y genotípicamente siguen siendo hembras. El semen de estos machos funcionales puede ser utilizado para fertilizar las ovas normales, obteniendo descendientes 100% hembras, para un consumo sin restricciones y utilizados en programas de reproducción (Bastardo et al., 2003).

Se ha reportado para este fin el uso de 31 esteroides diferentes, entre los que se incluye la 17α – metil testosterona, siendo esta la hormona más utilizada por su fácil obtención y gran estabilidad química; aunque no necesariamente es la más potente. Esta investigación tiene como objetivo analizar el porcentaje de reversión sexual a través de la comparación de diferentes dosis de tratamientos hormonales en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

Materiales y Métodos

Material biológico

Se seleccionaron ovas y esperma de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de 2 a 3 años de maduración. Los peces se obtuvieron de los estanques del Centro de Investigación Acuícolas Papallacta, propiedad del Ministerio de Acuicultura y Pesca (MAP), ubicado en la parroquia de Papallacta en el cantón Quijos provincia del Napo, Ecuador.

Diagnosis de la madurez sexual de reproductores

Se procedió a verificar el estado de madurez sexual de las truchas hembras presionando suavemente el abdomen para comprobar la existencia de ovas maduras. Los machos adultos por lo general se mantienen en estado maduro durante toda la época (Imaki, 2003). Para proceder a anestésiar a los ejemplares seleccionados, se agregaron 10ml de eugenol en 100 litros de agua contenidos en la tina donde se encontraban las truchas. Las hembras seleccionadas se colocaron sobre el soporte de extracción de ovas y se masajearon suavemente el abdomen con movimientos repetitivos desde la parte superior a la inferior. De esta forma las ovas cayeron y se depositaron en una malla recolectora; este procedimiento es conocido como método unipersonal (Imaki, 2003). Para los reproductores machos el procedimiento fue similar se presionó suavemente el abdomen de forma repetitiva, el material seminal se recogió en cajas Petri.

Ginogénesis

En un volumen de 2ml de semen, se aplicó la irradiación de rayos ultravioleta colocando la lámpara UV a una altura de 10cm, con una longitud de onda de 254 mm y un tiempo de 270 segundos (Parra, 2014), manteniéndola en continua agitación con el fin de que la muestra recibiera una irradiación uniforme. Para la fecundación artificial se empleó el método seco, cuya unidad experimental estuvo representada por 540 gramos de ovas (Blanco, 1995) a las que se le rociaron los 2ml de semen irradiado, mezclándolo uniformemente y sometiéndose a choques térmicos en un equipo de baño maría (modelo YCW-010). Los choques térmicos se aplicaron por inmersión de las ovas a baño de maría, mantenidas a temperaturas y tiempos ya definidos de 28°C, 10 minutos de duración y 10 minutos postfertilización o tiempo de espera de fecundación (Muñoz, 2007). Finalmente fueron llevadas a la incubadora con la ayuda de un cedazo, evitando los movimientos bruscos y sobre todo sin presencia de la luz. La incubación se realizó a temperaturas entre 8-10°C (Imaki, 2003).

Alimentación

La población obtenida de 735 alevines se dividió en siete lotes. Seis de estos lotes fueron alimentados con una dieta comercial a la que se le añadió 17 α -metil testosterona en diferentes cantidades y a diferentes días de consumo, mientras que el lote restante consumió la misma dieta comercial sin testosterona (grupo testigo) (Tabla 1). Para la preparación de la hormona se aplicó el procedimiento descrito por Bastardo et al., (2003). Del alimento balanceado seleccionado, marca Biomix se pesaron 3kg, que se separó en tres bandejas con 1 kg c/u y en las que se agregó la hormona 17 α -metil testosterona (Genetech) previamente diluida en 57 ml de alcohol etílico al 99.5%. Las cantidades utilizadas correspondieron a 1, 3 y 5 mg, que se mezclaron con el alimento. Posteriormente este alimento se cubrió con papel periódico para permitir la evaporación del alcohol. Al día siguiente se colocó en fundas selladas, dentro de un recipiente totalmente oscuro y en la refrigeradora para evitar la desintegración de la hormona. Este procedimiento se realizó cada 21 días. Una vez que se identificó el primer día en que el alevín absorbe su saco vitelino, se inició el suministro del alimento hormonado cada 60 minutos durante 9 horas diariamente por un período de entre 60 y 90 días, según el tipo de tratamiento. Concluido este período de alimentación se les suministro su dieta de balanceado comercial (dieta control) hasta el final del experimento (12 meses).

Tabla 1.
Tratamientos en estudio de la reversión sexual de la trucha arcoíris.

TRATAMIENTO	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
T1	H1D1	Hormona a 1 mg/kg de alimento a 60 días
T2	H1D2	Hormona a 1 mg/kg de alimento a 90 días
T3	H2D1	Hormona a 3 mg/kg de alimento a 60 días
T4	H2D2	Hormona a 3 mg/kg de alimento a 90 días
T5	H3D1	Hormona a 5 mg/kg de alimento a 60 días
T6	H3D2	Hormona a 5 mg/kg de alimento a 90 días
T7	H0D0	Hormona a 0 mg/kg de alimento a 0 días

Toma de datos

Una vez concluida la alimentación hormonada las truchas fueron trasladadas a las piscinas de crianza. Allí se criaron de forma convencional alimentadas con balanceado comercial con sus respectivas raciones hasta completar el tiempo del estudio.

A los 270 días desde que absorbieron su saco vitelino las truchas fueron sacrificadas mediante el corte en la cuarta arteria branquial y luego fueron depositados en una tina con agua para su desangrado total. Este procedimiento se realizó de tal forma que las vísceras no tuvieran contacto con sangre. Una vez que se desangraron completamente se realizó un corte longitudinal desde el orificio urogenital hasta la cabeza para poder observar las gónadas masculinas, femeninas o ambas.

Resultados

Para el propósito de este estudio, se aplicó un Análisis de Varianza ADEVA con arreglo factorial AxB y material testigo. En la Tabla 2 se observa que, del total de hembras en el grupo experimental, se llega a un máximo de reversión sexual del 86%. El tratamiento hormonal que muestra este resultado superior es el constituido por 3mg de 17 α -metil testosterona durante 60 días (codificación: H2D1). En esta misma muestra experimental el 14% presentó intersexo,

Tabla 2. Porcentaje de reversión sexual en la trucha arcoíris.

Tratamientos / Reversión	H0 D0	H1 D1	H2 D1	H3 D1	H1 D2	H2 D2	H3 D2	Total
Hembras	76%	13%	0%	0%	4%	0%	0%	13%
Machos	24%	48%	86%	83%	52%	85%	84%	66%
Intersexo	0%	39%	14%	17%	44%	15%	16%	21%
Total	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

El comportamiento de la reversión sexual en la trucha arcoíris en función de los tratamientos propuestos en el presente trabajo se muestra en la Figura 1. Existe un crecimiento significativo de especímenes con reversión sexual conforme se aumenta la dosis de 17 α -metil testosterona (Figura 1(a)). También se observan valores relativamente superiores en cuanto a presencia de especímenes intersexo para valores bajos de alimento hormonado (Figura 1(b)).

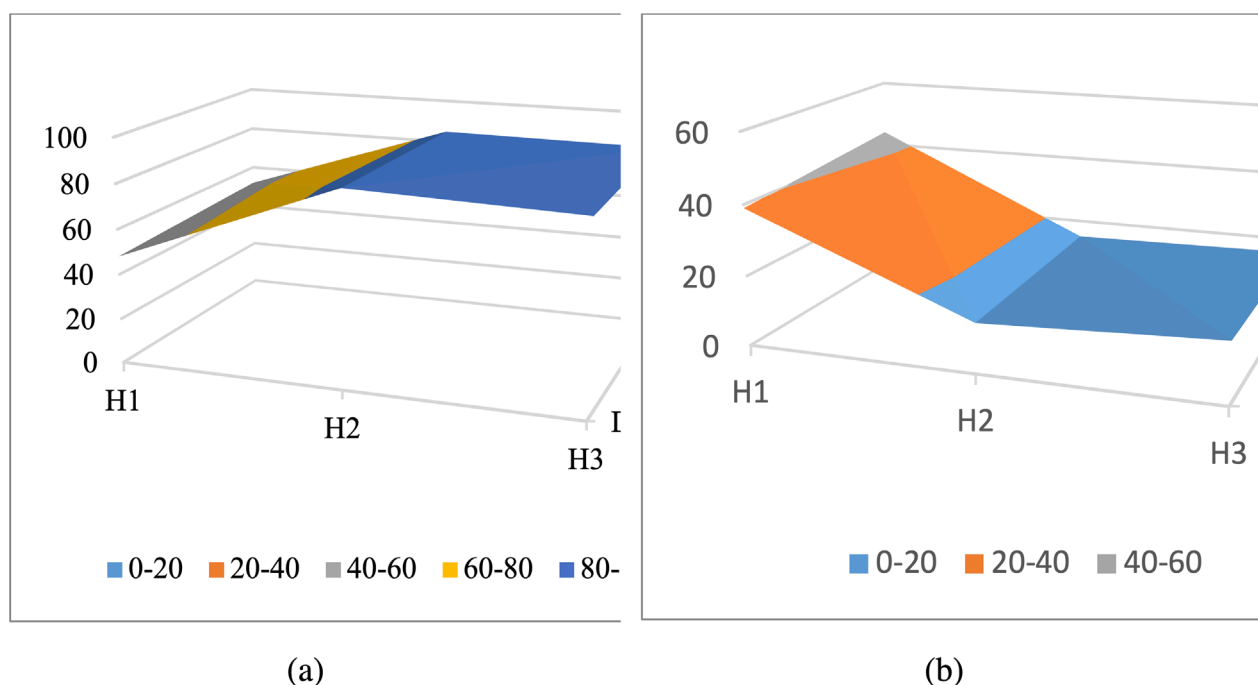


Fig. 1. (a): Reversión sexual de trucha arcoíris luego de tratamiento hormonal; (b) Presencia de especímenes intersexo luego de tratamiento hormonal de trucha arcoíris

Una vez observados los resultados de las observaciones realizadas luego de los distintos tratamientos propuestos en el presente trabajo, es necesario determinar de forma cuantitativa mediante un Análisis de Varianza cual es la variable cuyo efecto es más significativo. Los

resultados de este análisis se muestran en la Tabla 3.

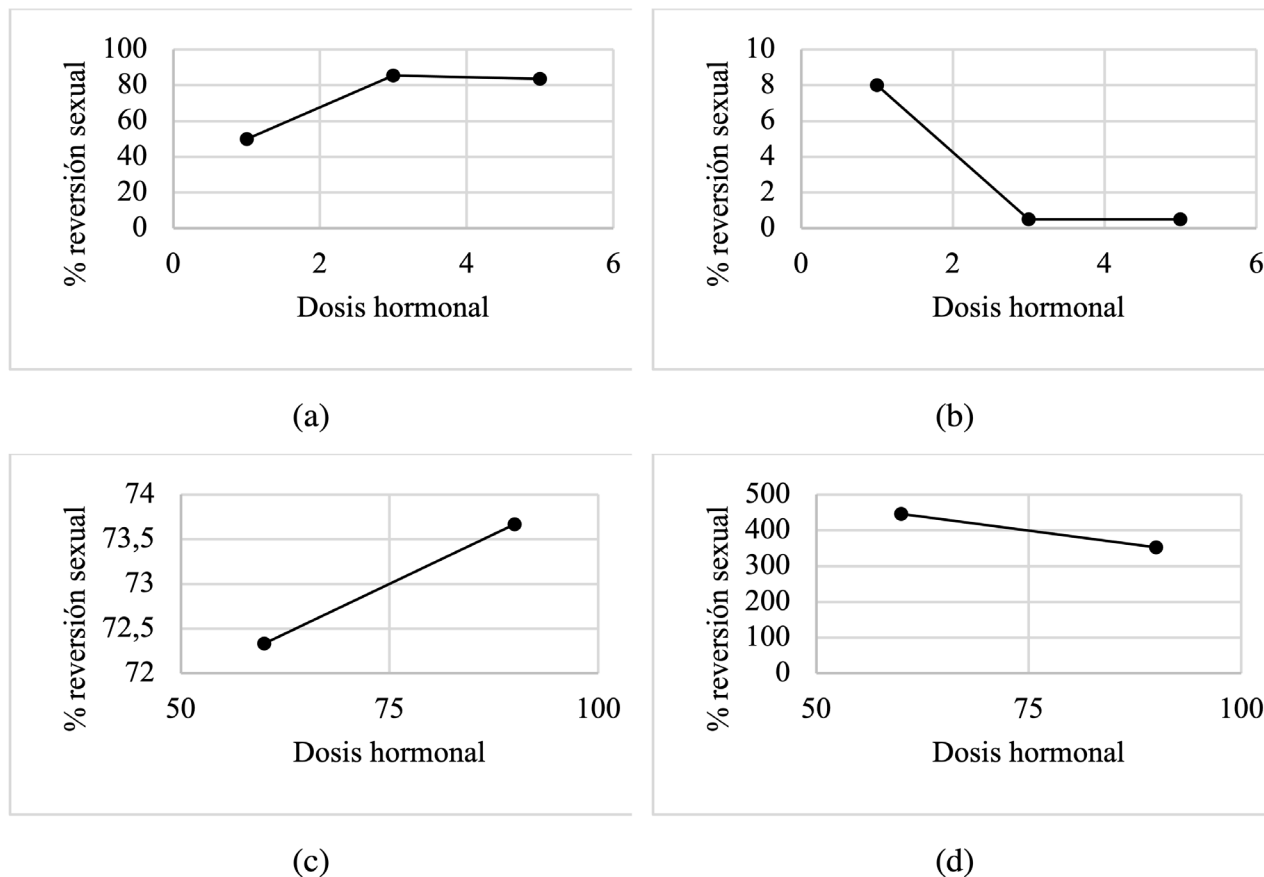
Tabla 3.

Esquema de la ADEVA del efecto de la alimentación hormonada sobre la reversión sexual de la trucha arcoíris.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico F
Dosis hormonal	1591	2	795,5	251,21	0,004	19
Tiempo de alimentación	2,67	1	2,67	0,84	0,456	18,51
Error	6,33	2	3,17			
Total	1600	5				

El análisis realizado muestra que el factor llamado "Dosis hormonal" presenta un P-valor de 0.004 en tanto que el factor denominado "Tiempo de alimentación" presenta un P-valor de 0.456. Estos resultados indican que la "Dosis hormonal" se encuentra en la zona de rechazo de la hipótesis nula respecto de esta variable. Por otra parte, el "Tiempo de alimentación" se encuentra en zona de aceptación de su hipótesis nula correspondiente. De este modo se puede afirmar que de estas variables, la "Dosis hormonal" influye de modo significativo desde el punto de vista estadístico, en cuanto a la reversión sexual en la trucha arcoíris. Estos resultados se muestran de forma gráfica en la Figura 2.

Fig. 2. (a): Promedios de porcentaje de reversión sexual para las tres dosis de hormona

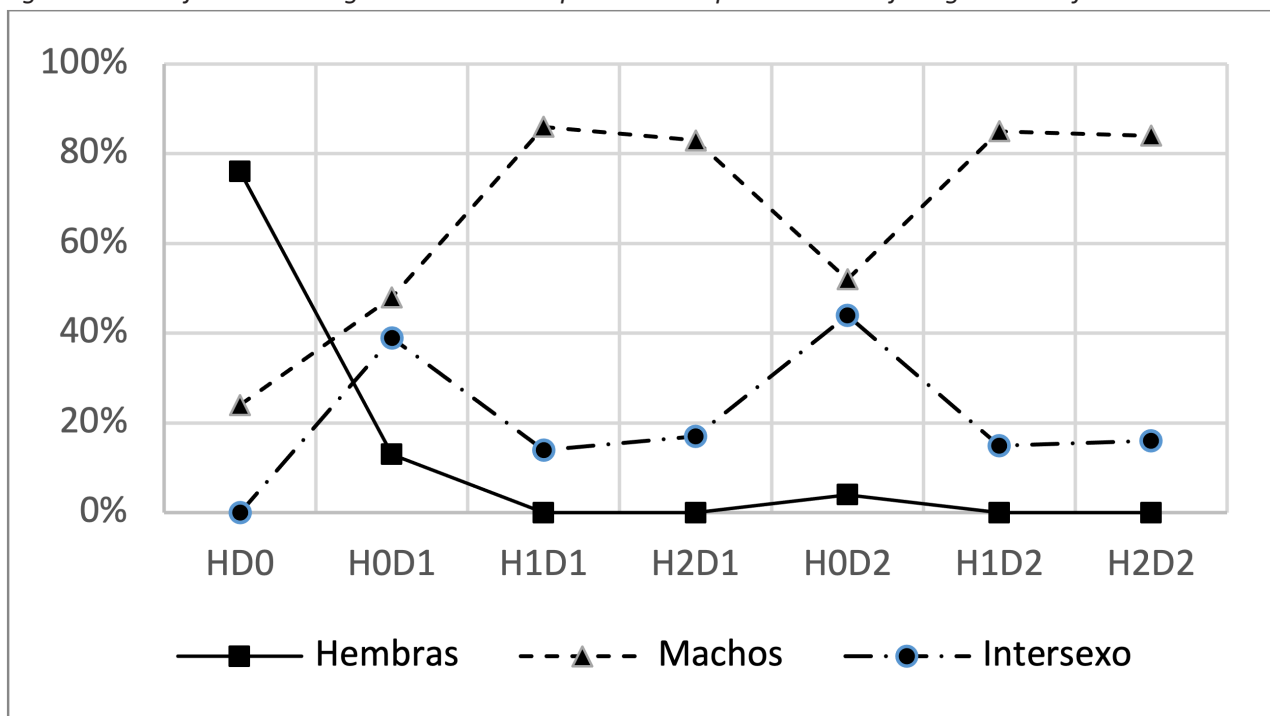


estudiada; (b): Varianza en porcentaje de reversión sexual para las tres dosis de hormona estudiada; (c): Promedios de porcentaje de reversión sexual en el tiempo de alimentación estudiado; (d): Varianza en porcentaje de reversión sexual en el tiempo de alimentación estudiado.

Los resultados del ANDEVA realizado muestran que el porcentaje de reversión sexual se ve significativamente influenciado por el factor "Dosis hormonal". Sin embargo, los resultados mostrados en la Figura 2 sugieren que esta influencia tiende a estabilizarse a partir de 5 mg de α -metil testosterona.

En la Figura 3 se muestra los porcentajes de variación sexual de todos los tratamientos aplicados en el presente trabajo, comparados con los datos del grupo testigo.

Fig. 3. Porcentajes de sexo según tratamiento aplicado en el presente trabajo según la codificación mostrada



en la Tabla 1.

La Figura 3 muestra que con todos los tratamientos con alimento hormonado, el porcentaje de hembras mostrado originalmente tiende a disminuir, en tanto que el porcentaje de machos funcionales aumenta. Esto corrobora lo propuesto en la hipótesis de trabajo en la presente investigación. Hay un porcentaje de truchas arcoíris que presenta intersexo. Este porcentaje tiende a ser significativo para los tratamientos con bajas cantidades de hormona α -metil testosterona y conforme se aumenta la dosis en el tratamiento, este porcentaje disminuye.

Conclusiones

- Este trabajo permitió a través del método de reversión sexual, masculinizar un 86% de las hembras de trucha arco iris, demostrando que el tratamiento de 3mg de hormonas con 60 días de aplicación fue la dosis de mayor incidencia en el porcentaje de aparición de gónadas masculinas.
- - La tecnología aplicada en el presente trabajo es una innovación en Ecuador. Su utilización tiene implicaciones de gran importancia en el sistema productivo del rubro trucha ya que permite obtener mayor proporción de hembras en un período de tiempo más corto que utilizando las poblaciones de ambos sexos con menos implicaciones asociadas a su dimorfismo.
- - Las observaciones realizadas sugieren que la utilización de la hormona α -metil testosterona en dosis bajas, incentiva la aparición de especímenes con intersexo en la trucha arcoíris.

Referencias

- Arai, K. (2000). Chromosome manipulation in aquaculture: Recent progress and perspective. *Suisanzoshoku*, 48 (2) 1-9 .
- Banco Nacional de Fomento. (2016). Promueve la piscicultura de trucha arcoíris en el Ecuador <http://www.bnf.gov.py/>. Obtenido de <https://www.bnf.gov.py/25933-banco-nacional-de-fomento-de-ecuador-promueve-la-piscicultura-de-trucha-arcoiris-como-actividad-que-genera-desarrollo-productivo.pdf>
- Bastardo, Hilda R, B, Sara, & B, Sofía. (2003). Masculinización de la trucha arco iris, *oncorhynchus mykiss*, para obtener descendencia todas hembras en un criadero venezolano. *Zootecnia Tropical*, 21(1), 27-41. Recuperado en 18 de julio de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692003000100003&lng=es&tlng=es.
- Benavides, J. S., Gómez, N. H., Ramos, A. A., y Macías, J. N. (2012). La ginogénesis como una alternativa de producción de alevinos de truchas solo hembras en el altiplano nariñense (Tesis de pregrado). Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
- Blanco, M. (1995). La trucha: cría industrial. Madrid: Mundi-Prensa.
- Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero. FONDEPES. (23 de Octubre de 2014). Manual de crianza de truchas en ambientes convencionales. Obtenido de http://www.fondepes.gob.pe/src/manuales/manual_trucha.pdf
- Food and Agricultural Organization. (2014). Manual práctico para el cultivo de la trucha arcoiris. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-bc354s.pdf>
- Imaki, A. (2003). Manual de manejo y crianza de trucha arcoíris. Quito: GD.
- Mejía, P., y Román, A. (2009). 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) (Tesis de pregrado). Universidad Ces, Medellín, Colombia.

- Muñoz, D. (2007). Inducir triploidía mediante la estandarización del choque térmico en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Tesis de pregrado). Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolqui, Ecuador.
- Parra, A. (2014). Obtención de lotes monosexos de trucha arco iris mediante procesos ginogenéticos, validados con indicadores moleculares de diferenciación sexual en el alto andino ecuatoriano (Tesis de pregrado). Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolqui, Ecuador.
- Pérez, C., Penman, D., y Bromage, N. (1999). Parámetros morfométricos de interés comercial en trucha Arcoíris triploide, *Oncorhynchus mykiss*. *AcuaTIC*, 1(2), 1-20.
- Pineda, S. H. (2003). Triploidía en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) (Vol. 17). Medellín: Ciencias Pecuarias.



ESCANEA ME