

**Evaluación del testículo de toro como fuente
de testosterona en la reversión sexual de
alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* en
agua con algas**

Edgar Mitchel White

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2008

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCION AGROPECUARIA

Evaluación del testículo de toro como fuente de testosterona en la reversión sexual de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* en agua con algas

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por

Edgar Mitchel White

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2008

Evaluación del testículo de toro como fuente de testosterona en la reversión sexual de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* en agua con algas

Presentado Por:

Edgar Mitchel White

Aprobado Por:

Daniel Meyer, Ph.D.
Asesor Principal

Miguel Vélez, Ph.D.
Director de la Carrera Ciencia
y Producción Agropecuaria.

Claudio Castillo, Ing. Agr.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

John Jairo Hincapie, Ph. D.
Coordinador de Área
Temática Zootecnia.

Kenneth L. Hoadley, D.B.A
Rector

RESUMEN

White, E.M. 2008. Evaluación del testículo de toro en la reversión sexual de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* en agua con algas. Proyecto Especial Ingeniero Agrónomo. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Las técnicas modernas para la producción de tilapia incluyen el uso de una hormona sintética para producir poblaciones mayormente de machos y hacer más eficiente el engorde de los peces. El objetivo del ensayo fue evaluar el testículo de toro en la reversión sexual de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* en agua con algas. La investigación se llevó a cabo de Julio a Septiembre 2008 en las instalaciones de la Estación de Acuicultura de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), Honduras, en 12 tanques circulares de fibra de vidrio de 1.0 m de diámetro y 0.4 m de alto conteniendo 400 L. Inicialmente se sembraron 200 alevines de la tilapia del Nilo de ≤ 12 mm en cada tanque. A los 30 días se redujo la población a 100 por tanque para acelerar el crecimiento de los peces. El ensayo consistió en probar harina de carne, testículo de toro deshidratado y congelado, como raciones en la reversión sexual de alevines de tilapia durante 30 días. En la segunda fase (día 30 al 60) del ensayo los alevines fueron alimentados con concentrado para tilapia con 32% de proteína cruda. La sobrevivencia general de los peces fue de 82% para los 60 días del ensayo. Durante el periodo de reversión sexual se observó una sobrevivencia de 92% y durante el pre-engorde de 76% de los peces. Al finalizar el ensayo se identificó 93, 78 y 68% de machos en los peces alimentados con TC, TD y HC, respectivamente. Para la producción de 1kg de alimento concentrado con hormona sintético el gasto es de US\$3.23 y US\$10.78 con testículo de toro. Es más económico preparar el alimento con hormona usando el producto sintético que testículo de toro para producir lotes mayormente de peces machos de tilapia.

Palabras Clave: Metil-testosterona, calidad de agua, sobrevivencia.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros y Figuras.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	12
LITERATURA CITADA.....	13

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro		Página
1	Parámetros, métodos y frecuencia de las mediciones para el monitoreo del agua en los 60 días del ensayo en el Zamorano, Honduras.....	4
2	Parámetros de la calidad del agua durante los 60 días del ensayo en el invernadero con los 12 tanques.....	6
3	Sobrevivencia de los alevines de tilapia a los 30 días (reversión) y a la cosecha a los 60 días (pre-engorde) de los tres tratamientos en Zamorano, Honduras.....	8
4	Peso promedio inicial, en la reversión y el final de alevines de tilapia alimentados con tres raciones de origen animal durante 60 días en Zamorano, Honduras	8
5	Comparación de los costos en preparar 1 kg de alimento concentrado usando hormona o testículo de toro para la reversión sexual de alevines de tilapia en Zamorano, Honduras.....	11
Figura		
1	Temperatura promedio de la mañana (a.m.) y tarde (p.m.) del agua de los tanques en los 60 días del ensayo y comparación con los rangos óptimos para el cultivo de tilapia	7
2	Ganancia de peso de los alevines de tilapia alimentados con Harina de Carne (HC), Testículo Congelado (TC) y con Testículo Deshidratado (TD) durante los 60 días del ensayo en Zamorano, Honduras.....	9
3	Crecimiento en longitud de alevines de tilapia alimentados con Harina de Carne (HC), Testículo Congelado (TC) y Testículo Deshidratado (TD) durante los 60 días del ensayo en Zamorano, Honduras.....	10

INTRODUCCIÓN

Cada día los consumidores están demandando una mayor variedad de productos orgánicos y un alto nivel de inocuidad en lo que compran y consumen. Desde 1990 la venta de productos orgánicos ha ascendido anualmente en 20-25% en los USA, alcanzando casi US\$10 billones en 2003 (APT 2006).

La demanda de pescado orgánico en los USA y en los países de Europa Occidental está creciendo pero su oferta es limitada (APT 2006). Actualmente solo se conoce de una finca que produce tilapia orgánica localizada en Israel (Milstein *et al.* 2008).

Las técnicas modernas para la producción de tilapia incluyen el uso de una hormona sintética para producir poblaciones mayormente de machos para hacer más eficiente el posterior engorde. El uso de la hormona sintética descalifica estos peces como producto orgánico de acuerdo a las normas del Departamento de Agricultura de los USA (Boehmer *et al.* 2005).

La metodología aceptada para la reversión sexual de alevines de tilapia es administrar oralmente 17- α -metil testosterona (MT) incorporada en un alimento con $\geq 40\%$ de proteína cruda por un periodo de 28-30 días (Clemens and Inslee 1968; Jo *et al.* 1988). La MT es un esteroide sintético de venta controlada en los USA y es difícil de adquirir para los pequeños productores de tilapia en Centro América (Pérez 2002).

La MT es de alta efectividad (más de 97% de machos) tratando alevines de ≤ 12 mm de largo total. A esta talla las gónadas de los alevines no han comenzado a diferenciarse (Popma y Green 1990).

Una alternativa para los piscicultores de tilapia es usar un producto natural, como los testículos de animales domésticos, para lograr la reversión sexual de los alevines. Los testículos de toro se adquieren con facilidad en muchos lugares en Centro América. El testículo fresco de toro contiene 18 ppm de testosterona (Guevara y Chan 2007). En Honduras los testículos frescos de toro son vendidos a mayoristas a un precio de \$2.70 por kg.

Haylor y Pascual (1991) reportaron la reversión sexual exitosa de alevines de tilapia usando testículos de ovinos como fuente de testosterona. La sobrevivencia de los alevines tratados fue de $\pm 50\%$.

Guevara y Chan (2007) lograron producir mayormente machos con testículo de toro y de verraco comenzando con alevines de ± 8 mm largo total, la sobrevivencia general de los alevines fue de 36% en un ensayo de 71 días de duración. La mayor mortalidad de los alevines fue observado cuando los peces estaban en recipientes con agua potable sin cloro y mantenidos en un laboratorio húmedo. La mortalidad de los alevines se atribuyó a una interrupción de la corriente eléctrica al laboratorio durante varias horas.

La testosterona es sensible a la temperatura alta. Con una exposición a 43°C y durante 15 minutos se observó una menor producción de espermatozoides en los testículos de ratones (Lue *et al.* 2000). Usando una temperatura de 32°C se logró producir poblaciones de alevines de tilapia con 87% de machos en Zamorano (Guevara y Chan 2007).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el testículo de toro congelado y deshidratado en la ración para la reversión sexual de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* en agua con algas. También se buscó evaluar el efecto del agua con algas en la sobrevivencia general de los peces, determinar el efecto de la testosterona en el crecimiento de los peces y hacer una comparación del costo entre el alimento hormonado preparado con MT y con testículo de toro.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo de Julio a Septiembre 2008 en las instalaciones de la Estación de Acuicultura de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), Zamorano, Honduras, localizada cerca del Lago de Monte Redondo; a una elevación de 750 msnm, con una temperatura promedio entre 24 a 25 C y precipitación de 1100 mm anual.

Se usaron 12 tanques circulares de fibra de vidrio (1.0 m de diámetro y 0.4 m de alto) con 400 L de agua bombeada del Lago Monte Redondo. El agua de cada tanque recibió aireación continua por medio de una difusora de sílice conectada a tubos de PVC y un soplador de 2.5 HP. Los tanques se colocaron dentro del invernadero de la estación y fueron cubiertos con una malla contra pájaros con luz de 25 mm.

Se contaron un total de 200 alevines de la tilapia del Nilo de ≤ 12 mm de largo total y ± 0.01 g de peso para sembrar en cada tanque para la primera fase del ensayo con una duración de 30 días. Estos alevines se produjeron por incubación artificial de huevos fértiles tomados de la cavidad oral de hembras adultas (Meyer y Triminio Meyer 2007; Guevara y Chan 2007).

Para la segunda fase del ensayo se redujo la densidad a 100 alevines por tanque para permitir un mayor ritmo de crecimiento entre ellos. Los peces se mantuvieron por otros 30 días hasta que alcanzaron un tamaño adecuado para realizar la determinación del sexo de cada individuo.

Durante las dos fases del ensayo, y a intervalos de 15 días, 50 peces por tanque fueron pesados en grupo y medidos individualmente para seguir su crecimiento. Se contaron todos los alevines de cada tanque al final de cada fase para determinar la sobrevivencia de los peces según los diferentes tratamientos.

El ensayo consistió en probar el efecto de tres raciones en la reversión sexual de alevines de tilapia. La cantidad total estimada de cada ración para la realización del ensayo fue de 1 kg de materia seca.

Preparación de la ración de Harina de Carne (HC): Se obtuvo 3 kg de harina de carne de la planta de concentrados de Zamorano. Esta fue puesta en un horno a 60°C por 24 h. Luego se pasó por un molino eléctrico, tipo casero, para obtener partículas uniformes en su tamaño y fue almacenada en un saco dentro de la bodega de alimentos de la estación.

Preparación de la ración de Testículo Congelado (TC): Se obtuvieron 5 kg de testículo fresco de toro en el puesto de ventas en Zamorano. Los testículos fueron

cortados en trozos con un cuchillo y pasados por una licuadora eléctrica comercial. Los testículos licuados se colocaron en una bandeja de aluminio y se conservaron a -10°C en un congelador en la estación.

Preparación de la ración de Testículo Deshidratado (TD): Se obtuvieron 5 kg de testículo fresco de toro en el puesto de ventas en Zamorano. Los testículos fueron cortados en trozos con un cuchillo y pasados por una licuadora eléctrica comercial. Luego se deshidrataron en un horno a 60°C por 24 horas y se molieron para obtener una harina de partículas uniformes en su tamaño. La harina fue guardada en una botella de plástico oscuro colocada dentro del laboratorio de la estación.

Las tres raciones se ofrecieron a los alevines en un comedero por tanque. Cada comedero se hizo de tubo de PVC (diámetro de 7.5 cm y largo de 30 cm) cortado por la mitad y suspendido por alambre galvanizado por debajo de la superficie del agua. Las raciones se ofrecieron a los alevines *ad libitum* cuatro veces por día, dos por la mañana y dos por la tarde, durante 30 días de reversión sexual.

La cantidad diaria a ofrecer de las raciones HC y TD se humedecieron con agua para formar unas pelotas para colocar en los comederos. Se limpiaron los comederos diariamente (por la mañana) removiendo cualquier residuo o sobrante de las raciones antes de proporcionar más.

En la segunda fase del ensayo los alevines fueron alimentados con concentrado para tilapia con 32% de proteína cruda en la forma de perdigones. Los perdigones fueron molidos para obtener un tamaño de partícula adecuado para ser ingerido por los alevines. El alimento concentrado molido fue ofrecido *ad libitum* en cuatro porciones diarias, dos en la mañana y dos en la tarde rociado sobre el tanque.

Calidad del agua. Durante los primeros 30 días (primera fase) del ensayo no hubo recambio de agua. Se hizo un recambio total del agua de cada tanque al día 30 y 45 del ensayo.

Los parámetros de la calidad del agua monitoreados fueron: la concentración del oxígeno disuelto, temperatura, pH y la transparencia del agua. Los equipos utilizados y la frecuencia de la medición se detallan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Parámetros, métodos y frecuencia de las mediciones para el monitoreo del agua en los 60 días del ensayo en el Zamorano, Honduras.

Parámetro	Aparato o método	Frecuencia de la medición
Oxígeno disuelto en el agua	YSI modelo 55	Diariamente (a.m. y p.m.)
Temperatura del agua	YSI modelo 55	Diariamente (a.m. y p.m.)
pH del agua	Fisher modelo AB-15	Semanalmente
Transparencia del agua	Disco Secchi	Semanalmente

Determinación del sexo. Al finalizar el ensayo de 60 días de duración se seleccionaron al azar 50 peces de cada tanque para la determinación de su sexo. Se utilizó la metodología de disección y examen microscópico de gónadas descrita por Popma y Green (1990) para identificar los machos y hembras.

Se usó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con medidas repetidas en el tiempo para tres tratamientos (las raciones) y cuatro réplicas de cada una (los tanques de fibra de vidrio) para los datos obtenidos de crecimiento en longitud, ganancia de peso y sobrevivencia de los peces. Se sometieron los datos a un análisis de varianza (ANDEVA) y separación de medias (Duncan). Se analizó el efecto de cada ración en la reversión sexual de alevines de tilapia haciendo un Chi cuadrado (χ^2); el nivel de significancia exigido fue de 0.05 utilizando el paquete Statistical Analysis Systems (SAS 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad del agua

La calidad del agua se mantuvo dentro de los rangos óptimos para el cultivo de tilapia (Boyd 1990). El pH del agua se mantuvo estable en neutro durante los 60 días del ensayo. Siempre se encontró suficiente oxígeno disuelto en el agua de los tanques (Cuadro 2).

La tilapia tolera una concentración mínima de oxígeno disuelto en el agua de 2 ppm (Balarin y Hatton 1979) y aguanta condiciones de anoxia durante breves momentos (Soderberg 2006).

Las menores temperaturas se observaron en las horas de la madrugada de cada día (Figura 1). Las temperaturas mínimas del agua registradas están dentro del rango óptimo para la tilapia (Balarin y Hatton 1979). Se observaron las menores temperaturas del agua

Las temperaturas máximas del agua, registradas siempre durante las horas de la tarde, ocasionalmente superaron el rango óptimo, y se aproximaron una vez, a niveles letales para la tilapia (Figura 1). A temperaturas de 40 a 42°C la sobrevivencia, tasa de desarrollo y actividad reproductiva de la tilapia se reducen (Balarin y Hatton 1979). Al tener los tanques en un invernadero el patrón de temperaturas fue superior a la temperatura ambiental.

El agua bombeada para llenar los tanques y hacer los recambios tenía un color verde debido a la presencia de algas. Todas las mediciones del disco Secchi tomadas durante el ensayo estuvieron dentro del rango aceptado para el cultivo de tilapia (Cuadro 2) (Boyd 1990).

Cuadro 2. Parámetros de la calidad del agua durante los 60 días del ensayo en el invernadero con los 12 tanques.

Parámetros (unidades)	Valor máximo	Valor mínimo	Promedio (No. Obs.)
Oxígeno disuelto (ppm)	8.80	2.50	6.07 (525)
Temp. (C)	39.4	25.8	31.7 (525)
Disco Secchi (cm)	31	5	20 (48)

No. Obs. = número de observaciones

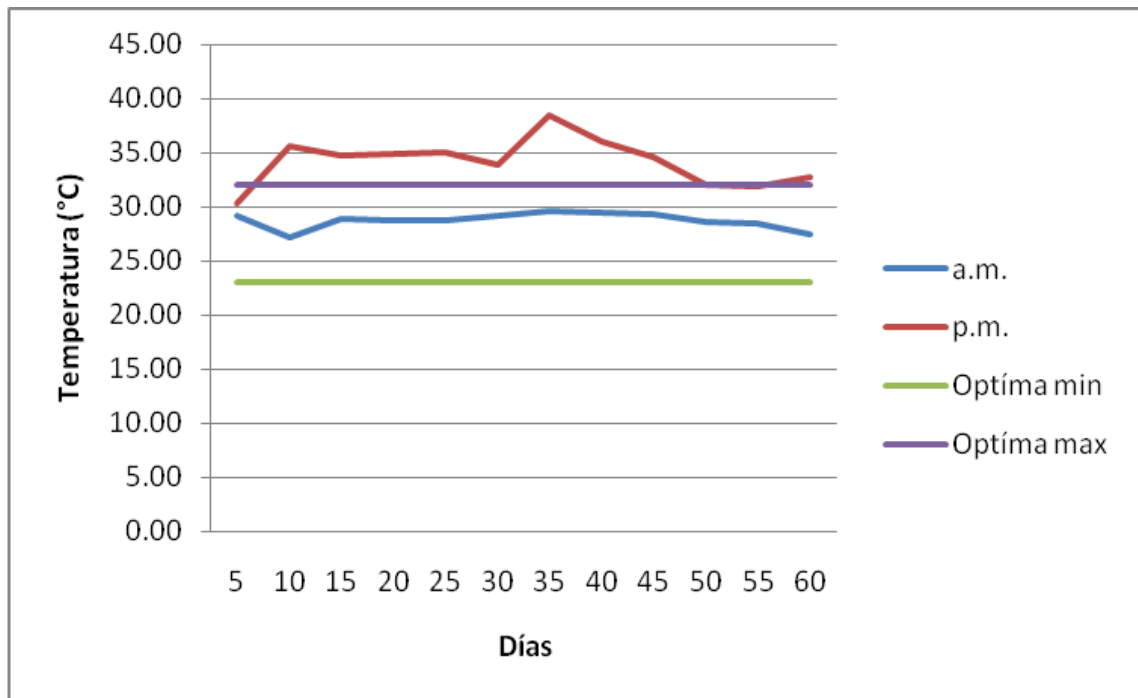


Figura 1. Temperatura promedio de la mañana (a.m.) y de la tarde (p.m.) del agua de los tanques en los 60 días del ensayo y comparación con los rangos óptimos para el cultivo de tilapia.

Sobrevivencia

La sobrevivencia general de los peces fue de 82% en los 60 días del ensayo. Durante el periodo de reversión sexual se observó una sobrevivencia general de 92% y durante el pre-engorde de 76%. No hubo diferencia en la sobrevivencia entre las tres raciones (Cuadro 3).

La sobrevivencia esperada de los alevines de tilapia durante la reversión sexual es normalmente de $\pm 50\%$ (Popma y Green 1990). Phelps *et al.* (s.f.) observaron una sobrevivencia de 28% y 69% para alevines en laboratorio y en campo, respectivamente, alimentados con testículo de toro liofilizado.

En un ensayo similar realizado en Zamorano, 36% de los alevines de tilapia alimentados con testículo de toro y de verraco y manejados en recipientes colocados dentro de un laboratorio con agua transparente y sin algas sobrevivieron en el ensayo de 71 de días duración (Guevara y Chan 2007). La alta mortalidad de los peces fue explicada, parcialmente, por un corte de luz que afectó los niveles de oxígeno disuelto en el agua de los recipientes y por una posible deficiencia nutricional provocada por dar una dieta exclusivamente de productos animales a una especie mayormente herbívora.

Cuadro 3. Supervivencia de los alevines de tilapia a los 30 días (reversión) y a la cosecha a los 60 días (pre-engorde) en Zamorano, Honduras.

Tratamientos	Supervivencia de los alevines (%)	
	Reversión sexual	Pre-engorde
Harina Carne	92	81
Testículo Congelado	95	75
Testículo Deshidratado	88	72

La tilapia tiene hábitos alimenticios omnívoros, no es considerado como pez carnívoro (Diana 1997). En el presente ensayo los peces recibían una ración 100% de origen animal, mas tenían la oportunidad de consumir algas y otros microorganismos abundantes en el agua verde de los recipientes. Contar con una variedad de alimentos posiblemente contribuyó a la buena supervivencia de los alevines en este ensayo.

Crecimiento

Se encontró diferencia ($P < 0.05$) entre los pesos de los peces al final del periodo de reversión sexual y al final del periodo de pre-engorde (Cuadro 4). Los peces alimentados con TD lograron una mayor ganancia de peso que los alimentados con TC. El menor peso fue observado en los peces alimentados con HC a los 30 días de la prueba. A los 30 días del ensayo no se encontró diferencia ($P > 0.05$) entre los peces alimentados con TD y TC en su crecimiento en longitud pero si en los que recibieron la ración de HC. Sin embargo, al final del ensayo no se encontró diferencia significativa entre los tres tratamientos (Figura 3).

Cuadro 4. Peso promedio inicial y final en la reversión sexual y al final del pre-engorde de alevines de tilapia alimentados con tres raciones de origen animal durante 60 días en Zamorano, Honduras.

Tratamientos	Peso promedio individual (g)		
	Inicial	Reversión a los 30 días	Pre-engorde a los 60 días
Harina de Carne	0.01 ± 0	0.54 ± 0.02 c	3.54 ± 0.11 b
Testículo Congelado	0.01 ± 0	0.79 ± 0.05 b	3.56 ± 1.07 b
Testículo Deshidratado	0.01 ± 0	0.94 ± 0.14 a	3.85 ± 0.61 a

Valores en la misma columna con distinta letra son estadísticamente diferentes entre sí ($P < 0.05$).

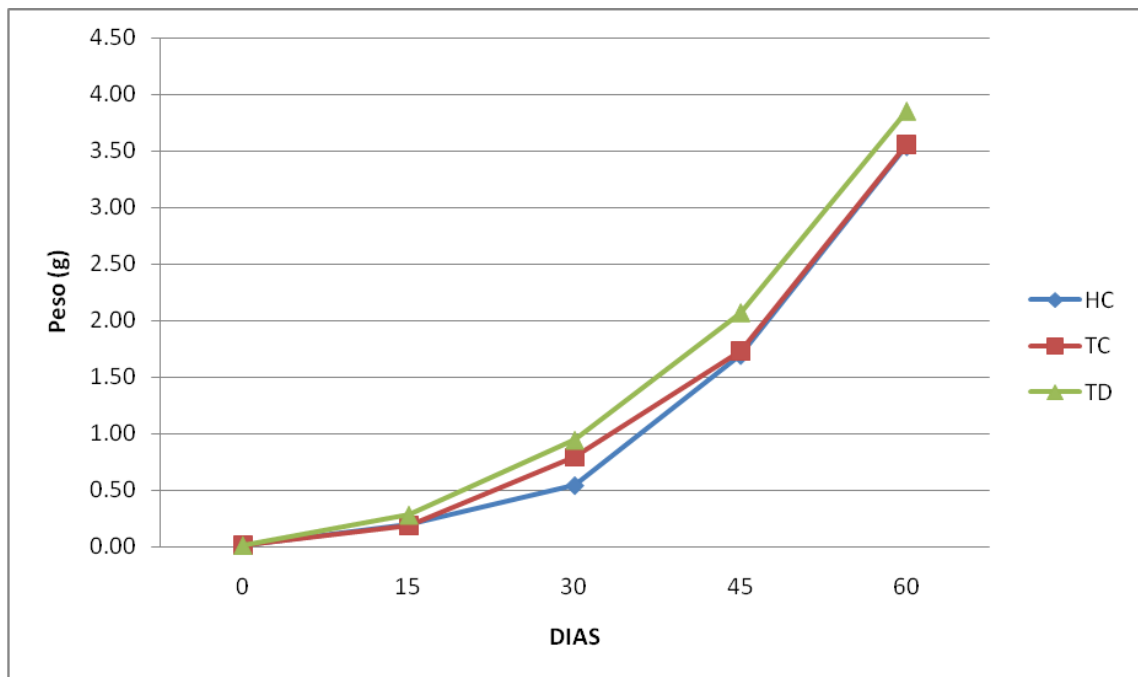


Figura 2. Ganancia de peso de los alevines de tilapia alimentados con Harina de Carne (HC), Testículo Congelado (TC) y con Testículo Deshidratado (TD) durante los 60 días del ensayo en Zamorano, Honduras.

A los 60 días del ensayo los peces alimentados con TD alcanzado el mayor peso promedio ($P < 0.05$). Los alimentados con TC y HC ganaron igual peso (Cuadro 4). La longitud total de los alevines no fue diferente entre las tres raciones al final del ensayo (Figura 3).

La ganancia de peso es similar a las reportadas por Guevara y Chan (2007) en un ensayo de 71 días alimentando los alevines con testículo de toro y verraco, y por Phelps *et al.* (s.f.) usando testículo de toro liofilizado.

Guevara y Chan (2007) determinaron que el testículo fresco de toro contiene $\pm 80\%$ de humedad. Posiblemente se les dio a los alevines insuficiente cantidad TC debido a su alto contenido de humedad comparado con las raciones prácticamente secas de TD y HC.

A partir de los 30 días del ensayo todos los peces fueron alimentados con concentrado molido para tilapia. Los peces previamente alimentados con TD y HC no se vieron afectados por este cambio de ración. Posiblemente los peces del tratamiento TC tuvieron problemas en adaptarse al nuevo alimento seco y pulverizado después de consumir una ración con gran contenido de humedad. Esto puede explicar su menor crecimiento durante la segunda fase del ensayo (Figuras 2 y 3).

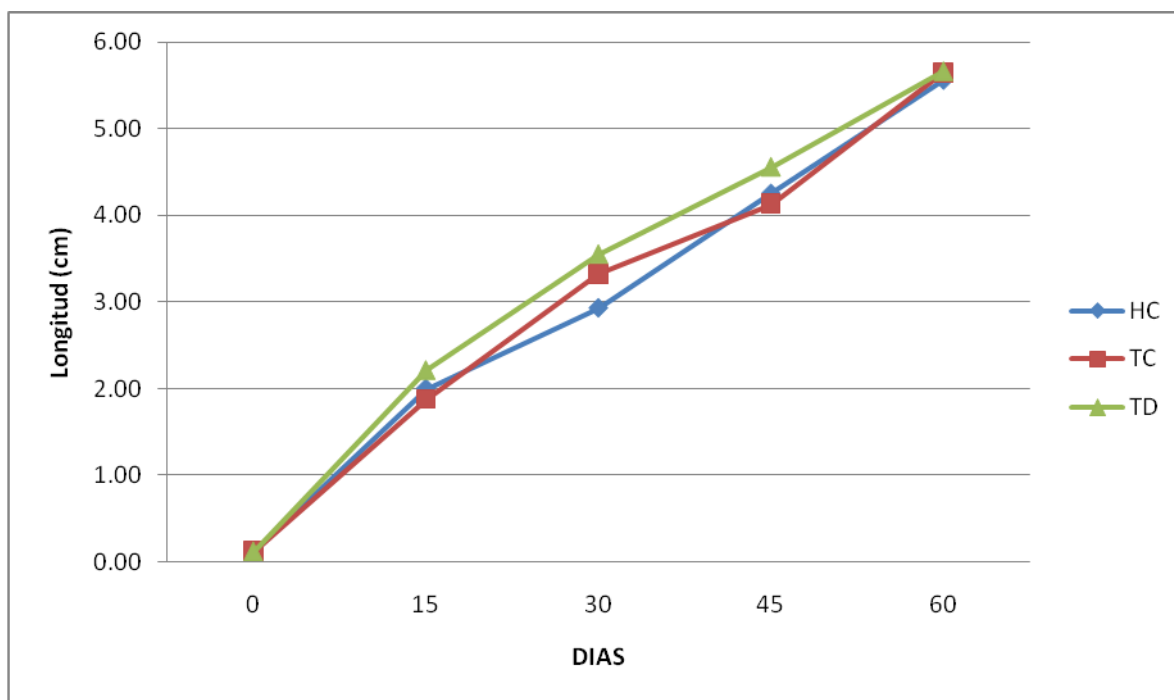


Figura 3. Crecimiento en longitud de alevines de tilapia alimentados con Harina de Carne (HC), Testículo Congelado (TC) y Testículo Deshidratado (TD) durante los 60 días del ensayo en Zamorano, Honduras.

Reversión Sexual

Al finalizar el ensayo de 60 días, se observó la mayor ($P \leq 0.05$) proporción de machos (93%) en los peces alimentados con TC. Los grupos alimentados con TD y HC tuvieron 78 y 68% de peces machos, respectivamente. Todos los grupos presentaron porcentajes de machos superior a lo esperado de 50% ($P \leq 0.05$). La proporción de machos observado en la HC se puede explicar debido a que tratar huevos de tilapia a los 10 días post-fertilización con agua a 36°C puede provocar un mayor porcentaje de machos en poblaciones de tilapia del Nilo (Altena and Hörstgen-Shwark 2002). En el presente ensayo la temperatura del agua durante las horas de la tarde ocasionalmente superó los 36° (Figura 1).

Los mayores porcentajes de machos fueron observados en los peces alimentados con TC y TD, raciones que contienen testosterona. No se esperaba encontrar proporción tan alta de machos entre los peces alimentados con TD ya que al deshidratar los testículos estos fueron sometidos a alta temperatura, capaz de inactivar su contenido de testosterona (Lue *et al.* 2000).

Resulta mas económico preparar alimento hormonado usando MT que testículo de toro (Cuadro 5). MT es un producto importado que viene en la forma de un polvo y es fácil de almacenar y usar. Los testículos de toro son fáciles de adquirir en el cualquier

mercado de Honduras pero requieren una preparación más complicada y extensa para su incorporación en dietas para alevines de tilapia. La utilización de testículo de toro para la reversión sexual puede tener relevancia para la producción de una tilapia orgánica.

Cuadro 5. Comparación de los costos en preparar 1 kg de alimento concentrado usando hormona o testículo de toro para la reversión sexual de alevines de tilapia en Zamorano, Honduras.

Ingrediente	Unidad	Valor/unidad (USD)	Costo de alimento preparado (USD/kg)	
			Con MT	Con testículo
Alimento Concentrado	kg	0.80	0.80	0.32
MT	g	7.00	0.44	---
Testículo de Toro	kg	2.70	---	8.10
Alcohol Etílico 95%	L	0.90	0.45	---
Mano de Obra	Hombre hora	0.62	1.24	1.86
Electricidad			0.30	0.50
Total =			3.23	10.78

CONCLUSIONES

- La mejor respuesta a la reversión sexual se obtuvo con testículo de toro congelado.
- La sobrevivencia no fue afectada por el testículo de toro congelado o deshidratado durante el periodo de reversión sexual y pre-engorde.
- Los mejores pesos promedios individuales se lograron en los peces que consumieron testículo deshidratado.
- Resulta más económico preparar alimento usando la hormona sintética que testículo de toro.

RECOMENDACIONES

- Utilizar MT en la preparación de alimento para la reversión sexual de tilapia.
- Probar testículo de toro como una fuente de testosterona en la reversión sexual de tilapia para la producción de tilapia orgánica.
- Probar el método de liofilización para el secado de los testículos de toro.

LITERATURA CITADA

Altena, A; Hörstgen-Schwark G. 2002. Effects of Rearing Temperatures on Sex Ratios in Tilapia, *Oreochromis niloticus* L., Investigations on a Local Population from the Lake Victoria in Kenya. Deutscher Tropentag, Witzenhausen. Georg-August University Göttingen, Institute of Animal Husbandry and Genetics, Germany. 184.

APT (Aquaculture Production Technology, Ltd.). 2006. Tilapia Orgánica: Cultivo orgánico de peces (en línea). Consultado 20 de mayo. Disponible en: http://www.aquaculture.co.il/markets/S_organic_Tilapia.html

Balarin, JD ; Hatton JP. 1979. Tilapia: A guide to their biology and culture in Africa. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland. 174 p.

Boehmer, S; Gold M; Hauser S; Thomas B; Young A (editors). 2005. Organic Aquaculture, USDA. National Farming Systems Information Center, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA. 58 p.

Boyd C.E. 1990. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University. Alabama, USA. 482 p.

Clemens, HP; Inslee T. 1968. The production of unisexual broods by *Tilapia mossambica* sex-reversed with methyl testosterone. Trans. Amer. Fish. Soc. 97:18-21.

Diana, JS. 1997. Feeding Strategies. In: Egna HS; Boyd CE (Editors). Dynamics of Pond Aquaculture. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. pp 245-262.

Guevara, MA; Chan WA. 2007. Efecto de la alimentación con testículo molido de toro y verraco como fuente de testosterona sobre la reversión sexual de alevines de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*. Proyecto Especial de Graduación para Ing. Agr. Escuela Agrícola Panamericana, Tegucigalpa, Honduras. 9 p.

Haylor, GS; Pascual, AB. 1991. Effect of using ram testis in a fry diet for *Oreochromis niloticus* (L.) on growth, survival and resulting phenotypic sex ratio. Aquaculture and Fisheries Management 22: 265-268.

Jo, JY; Smitheran RO; Behrends LL. 1988. Effects of dietary 17- α -methyl-testosterone on sex reversal and growth of *Oreochromis aureus*, p. 203-207. In Pullin RSV; Bhukaswan T; Tonguthai, K; Maclean JL (editors.) The Second International Symposium on Tilapia Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 15, 623 p. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.

Lue, Y; Sinha Hikim AP; Wang C; Im M; Leung A; Swerdloff RS. 2000. Testicular Heat Exposure Enhances the Suppression of Spermatogenesis by Testosterone in rats: the “Two-Hit” Approach to Male Contraceptive Development. *Endocrinology* (141):1414-1424.

Meyer, DE; Triminio Meyer S. 2007. Reproducción y cría de alevines de tilapia: Manual práctico. Aquaculture Collaborative Research Support Program, Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA. 50 p.

Milstein, A; Joseph, D; Peretz, Y; and Harpaz, S. 2008. Increasing natural food and reducing added feeds in organic tilapia ponds. *World Aquaculture Magazine*: p 28-29.
Phelps, RP; Lovshin LL; Green BW (s.f.). Sex Reversal of Tilapia: 17- α methyltestosterone Dose Rate by Environmental, and Efficacy of Bull Testis. Progress Report, Honduras Special Study 1. Pond Dynamics/Aquaculture Collaborative Research Support Program. Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA. 4 p.

Pérez Atencia, R.D. 2002. Evaluación de tres hormonas sintéticas para la reversión de sexo de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Proyecto Especial de Graduación para Ing. Agr. Escuela Agrícola Panamericana, Tegucigalpa, Honduras: 14p

Popma, T; Green BW. 1990. Sex reversal of tilapia in earthen ponds. Research and Development Series No 35. International Center for Aquaculture, Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama, USA. 15 p.

SAS. 2003. User Guide. Statistical Analysis Systems Inc., Carry, NC. Version 9.01. 329 p.

Soderberg, R.W. 2006. Culture in flowing water, p. 289-312. In: Lim, C.E. and C.D. Webster (editors). *Tilapia: Biology, Culture and Nutrition*. The Haworth Press, Inc., New York, USA.