

Phenotypic validation of the heat shock technique for the eco-friendly production of alternative *Oreochromis aureus* seed in tropical aquaculture

Rosa Fernández- Chumbe, MsC¹, Yoner Salas-Pastor, Mg.², Carlos Vásquez-Rodríguez, Blgo. Pesq.³, Héctor Humberto Guzmán-Santiago⁴, and Jimy Oblitas-Cruz, M.Sc.⁴

¹ World & Bussiness Group S.R.L, rfernandezchumbe@gmail.com · ² Universidad Nacional de Cajamarca, Perú, yasalasp@unc.edu.pe, ³ Dirección Regional de la Producción Cajamarca, cvasquez@regioncajamarca.gob.pe, ⁴ Universidad Privada del Norte, Perú, jimy.oblitas@upn.edu.pe

Abstract – Population growth is increasing, and resources to satisfy the needs of humanity are scarce, which is why the cultivation of hydrobiological species is a great alternative solution, one of the most studied species are Oreochromis niloticus, O. aureus, etc. The present research project was based on the phenotypic validation of thermal shock for the eco-friendly production of alternative seed of Oreochromis aureus in tropical aquaculture. For this, we worked with tilapia specimens that presented eggs or mouth-brooding larvae, where the artificial reproduction of O. aureus, based on three treatments and three repetitions considering temperatures of 39, 40 and 41 °C with exposure to thermal shock of 2 to 5 minutes. An FCA of 1.68 for diploid fry and 1.65 for triploid fry was obtained at the 60-day stage. The greatest increase in weight (49.7%) was for triploid fry compared to diploid fry (47.0%), in addition to uniform growth and better performance. The treatment with the best results for the hatching of fertilized eggs was T2 (40 °C x 60 Seconds) with a value of 86%. What was sought was to make efficient use of water, food consumption and rearing time, by not using any sexual reversal hormone in fish

Keywords-- Thermal shock, eco-friendly, triploidy.

Digital Object Identifier: (only for full papers, inserted by LACCEI).
ISSN, ISBN: (to be inserted by LACCEI).
DO NOT REMOVE

Validación fenotípica de la técnica de shock térmico para la producción eco-amigable de semilla alternativa de *Oreochromis aureus* en la acuicultura tropical

Rosa Fernández- Chumbe, MsC¹, Yoner Salas-Pastor, Mg.², Carlos Vásquez-Rodríguez, Blgo. Pesq. , Héctor Humberto Guzmán-Santiago⁴, and Jimmy Oblitas-Cruz, M.Sc.⁴

¹ World & Business Group S.R.L, rfernandezchumbe@gmail.com ² Universidad Nacional de Cajamarca, Perú, yasalasp@unc.edu.pe, ³ Dirección Regional de la Producción Cajamarca, cvasquez@regioncajamarca.gob.pe, ⁴ Universidad Privada del Norte, Perú, N00294022@upn.pe, jimy.oblitas@upn.edu.pe

Resumen-- El crecimiento poblacional va en aumento, y los recursos para satisfacer las necesidades de la humanidad escasean, es por eso que el cultivo de especies hidrobiológicas resulta una gran alternativa de solución, una de las especies más estudiadas son *Oreochromis niloticus*, *O. aureus*, etc. El presente proyecto de investigación se basó en la validación fenotípica de shock térmico para la producción eco-amigable de semilla alternativa de *Oreochromis aureus* en la acuicultura tropical. Para ello se trabajó con especímenes de tilapias que presentaron huevos o larvas de incubación bucal, dándose la reproducción artificial de *O. aureus*, en base a tres tratamientos y tres repeticiones considerando temperaturas de 39, 40 y 41 °C con exposiciones al shock térmico de 30 segundos a 5 minutos. Se obtuvo un FCA de 1.68 para alevines diploides y 1.65 para alevines triploides en la etapa de 60 días. El mayor incremento en peso (49.7 %) fue para los alevines triploides comparado con los diploides (47.0 %), además de crecimiento uniforme y mejor performance. El tratamiento con mejores resultados para la eclosión de ovas fecundadas fue el T2 (40 °C x 60 Segundos) con un valor del 86 %. La investigación contribuye a la eficiencia del consumo de alimento, tiempo de cultivo de tilapias y la eliminación de androgenizantes empleados en la reversión sexual de los peces.

Palabras Clave-- shock térmico, eco-amigable, triploidía.

I. INTRODUCCIÓN

Debido al crecimiento demográfico, se prevé que el consumo de pescado aumente aproximadamente un 1,2 por ciento al año hasta 2030. [1]. Uno de los principales problemas que presenta el cultivo comercial de tilapia nilótica es su alta prolificidad, que ocasionan altas pérdidas económicas. Por esto, la necesidad de cultivos monosexos (machos), híbridos y triploides estériles[2]. En el cultivo de *Oreochromis spp.* se ha empleado la hormona androgenica 17 alfa-metil-testosterona, la cual modifica directamente las características sexuales y tiene un efecto adicional sobre las gónadas. De esta forma e independientemente de la utilización de la hormona, los individuos mantienen la segregación normal esperada de la especie en el momento de la fertilización en *Oreochromis spp.* [3].

El suministro oral de andrógenos ha permitido producir poblaciones con proporción masculinas del 80 al 90 %, esta variación es probable que se deba a las diferentes cantidades de alimento hormonado que es consumido por los peces, proceso influido principalmente por el procedimiento de alimentación, la competencia por el alimento, la densidad y las características hidráulicas del tanque de cultivo [4], sin embargo el empleo de grandes cantidades de esteroides sexuales para obtener poblaciones monosexo ha generado una creciente preocupación, debido a que la acumulación de esteroides en los cuerpos de agua cercanos a las granjas impacta negativamente a los ecosistemas acuáticos, pudiendo alterar las proporciones sexuales de animales silvestres que habitan dichas zonas. [5] La inducción a la poliploidía en organismos acuáticos, permite mejorar su desempeño en cultivo, debido a que estos organismos no alcanzan la madurez sexual, por lo que existe un control sobre la población; además en el ámbito ambiental, específicamente aplicado a programas de repoblamiento con individuos estériles, se atenúan o eliminan riesgos ligados a la interacción reproductiva con poblaciones naturales residentes en el medio, lo que posibilita conservar la diversidad genética y evitar endogamia. [6].

Entre las diversas técnicas existentes para la obtención de triploides en tilapia es la formación de las parejas que consiste en machos diploides y hembras tetraploides. Por lo tanto, todas las larvas serán necesariamente triploides, es decir estériles. [7]. La aplicación de un choque térmico caliente en huevos de la tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus*, se utiliza para producir población monosexo, estéril o poliploide. [8].

Algunas investigaciones utilizan el shock térmico para provocar triploidía, que causa esterilidad en los peces, como es el caso de investigaciones realizadas en la Piscigranja de Motil, La Libertad, donde se obtuvo triploides de *O. mykiss* aplicando shock térmico de 28 °C durante 5 minutos en la fecundación [9].

En los últimos años estudios realizados experimentalmente se han centrado en determinar de manera precisa si los peces triploides son más sensibles a tales variaciones por triploidía; es decir si los efectos fisiológicos del incremento en el tamaño de

la célula causados por la adición de un tercer juego de cromosomas traen consigo adaptaciones fisiológicas favorables para enfrentar los factores ambientales [10].

La investigación nos permite lograr una buena conversión alimenticia, performance en el crecimiento, una eficiencia cercana al 100 % en la obtención de machos de tilapia triploides, así como conocer los niveles rangos de temperaturas óptimas, en la etapa de producción de alevines, sin el empleo de hormonas de reversión sexual de peces, ajustándose al uso eficiente del agua, consumo de alimento y tiempo de crianza.

Finalmente, la investigación contribuye a la producción eco amigable de semilla alternativa de *Oreochromis aureus* en la acuicultura tropical, mediante la validación fenotípica de la técnica de shock térmico.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con 400 individuos F1 los cuales fueron seleccionados por lotes con madurez sexual de V, sin lesiones y con rangos de pesos entre 300 a 700 g para machos y hembras, y fueron colocados en tanques de 1,5 m³ en grupos de 20 a 30 individuos machos y hembras, los que luego fueron estimulados manualmente para inducir el desove y obtención de los productos sexuales. La actividad de reproducción se realizó en el Módulo Piscícola La Balsa, distrito de Namballe, provincia de San Ignacio, región Cajamarca.

También se trabajó con aquellas tilapias que presentaron huevos de incubación bucal. La reproducción artificial de *O. aureus* se realizó con tres tratamientos y tres repeticiones considerando temperaturas de 39, 40 y 41 °C con exposiciones al shock térmico de 30 segundos a 5 minutos utilizando baño maría y termómetros digitales.

Luego fueron incubados en incubadoras Mc. Donald hasta su eclosión y obtención de larvas en bandejas de eclosión. Se determinó la mortalidad y supervivencia en el proceso, luego se realizó la crianza de los alevines y se determinó el porcentaje de triploides aplicando la técnica de triploidía.

El crecimiento de la semilla triploide de *O. aureus* se realizó en tanques de cultivo de 1,0 m³ con suministro de alimento artificial de 45 % de proteínas con tasas de alimentación de 15 % y frecuencia de alimentación diaria, se registró la biometría de talla y peso usando ictiómetros y balanzas digitales.



Fig 1. Mapa de ubicación del Módulo Piscícola la Balsa

Los parámetros físico-químicos de temperatura, oxígeno, pH y TDS relacionados al agua de cultivo tanto en la etapa de reproductores como en las de crecimiento de semilla triploide, fueron registrados con equipos digitales de multiparámetros.

La conversión alimenticia se obtuvo con el gasto de alimento consumido en el periodo de crianza en relación con la diferencia de la biomasa de *O. aureus*

La caracterización fenotípica se llevó a cabo mediante muestreos biométricos a la edad de 45 y 60 días en la etapa alevín, tanto para diploides y triploides.

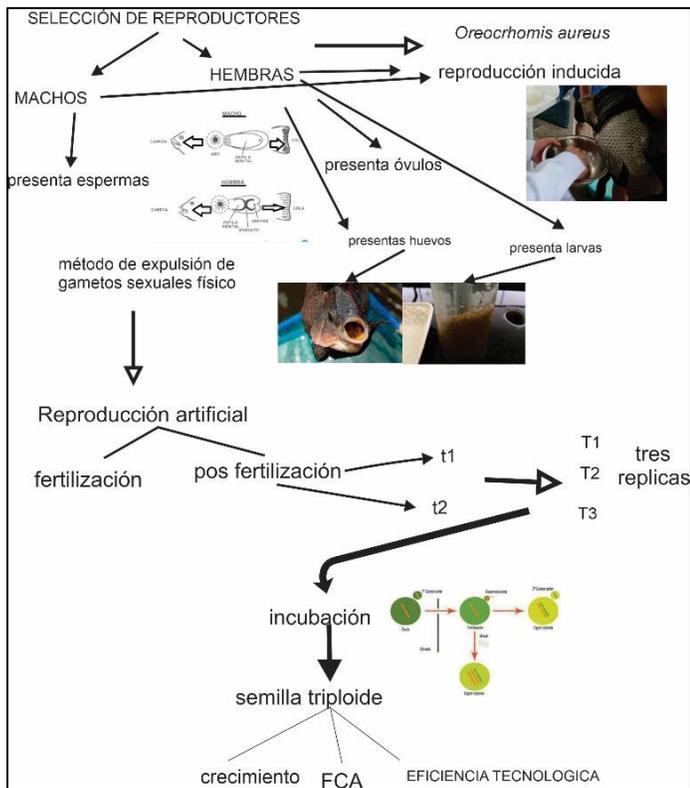


Fig. 2 Proceso de shock térmico, en la obtención de semillas triploides de *O. aureus*.

III. RESULTADOS

Posterior al proceso de embriogénesis de los huevos embrionados de *O. aureus* y la aplicación del shock térmico se incubaron en Jarras Mc Donald durante 10 días, luego de este tiempo los alevinos fueron llevados a bandejas de fibra de vidrio por un periodo de 15 días, y posteriormente a los estanques de fibra vidrio con las dimensiones de 1.5 m diámetro y 1.20 m alto para seguir su monitoreo de crecimiento y engorde de diploides (blanco o grupo control) y triploides.



Fig 3. Proceso de incubación de huevos



Fig 4. Eclósión de larvas de tilapia embrionados.

Los parámetros de calidad del agua influyen de manera determinante en nuestros indicadores de producción, el descontrol de estos genera retrasos en el crecimiento o muerte de la semilla de tilapia.

El comportamiento de los parámetros fisicoquímicos del agua en el cultivo de los alevinos triploides en el periodo de 60 días, en promedio fue de 37.5 °C de temperatura, 7.5 de pH y 8 mg/L de oxígeno.

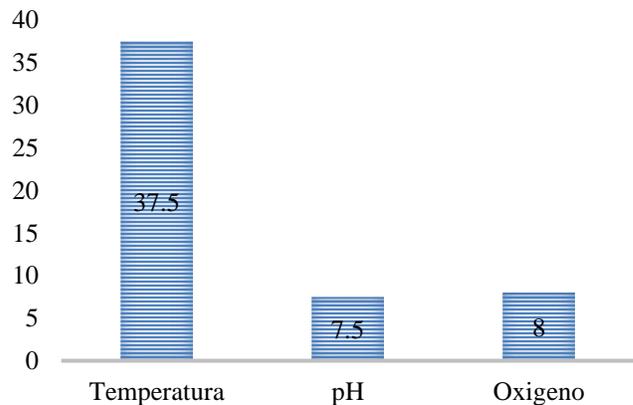


Fig. 5 Control de los parámetros físico-químicos del agua.

El crecimiento y conversión alimenticia de la semilla obtenida por shock termico se determinaron con los muestreos biométricos, tasa de alimentación (TA) y Conversión Alimenticia (FCA)

Para obtener el FCA se realizaron muestreos biométricos de las poblaciones de alevinos diploides y triploides a los 45 días y 60 días (Tablas 1, 2, 3 y 4).

Tabla 1. Biomasa, TA, ración y alimento suministrado por un pedido de 15 días, a la edad de 45 días de alevines diploides.

Muestreo biométrico alevines diploides			Alimento
N°	Longitud D	Peso D	Suministrado x 15 días
Biomasa		83.25	
TA	15%	12.49	
Ración		2.50	
Alimento suministrado por un periodo (15 días)			187.31
Peso inicial (g) /alevín			0.6

Tabla 2. Biomasa, TA, ración y alimento suministrado por un pedido de 15 días, a la edad de 45 días de alevines triploides.

Muestreo biométrico alevines triploides			Alimento
N°	Longitud T	Peso T	Suministrado x 15 días
Biomasa		48	
TA	15%	7.20	
Ración		1.44	
Alimento suministrado por un periodo (15 días)			108
Peso inicial (g) /alevín			0.4

Tabla 3. Biomasa, TA, ración y alimento suministrado por un pedido de 15 días, a la edad de 60 días de alevines diploides.

Muestreo biométrico alevines diploides			Alimento
N°	Longitud D	Peso D	Suministrado x 15 días
Biomasa		177.00	
TA	13%	23.0	
Ración		4.60	
Alimento suministrado en el periodo (15 días)			345.15
Alimento suministrado			157.84
Ganancia de Biomasa			93.75
			FCA 1.68
Peso inicial (g) /alevín			1.2
Nro. de días			15.0
Incremento de peso medio en (g)/día			0.042
Porcentaje de incremento en el periodo de 45 a 60 días			47.0%

Tabla 4. Biomasa, TA, ración y alimento suministrado por un pedido de 15 días, a la edad de 60 días de alevines triploides.

Muestreo biométrico alevines triploides			Alimento
N°	Longitud T	Peso T	Suministrado x 15 días
Biomasa		96.60	
TA	13%	12.56	
Ración		2.51	
Alimento suministrado en el periodo (15 días)			188.37
Alimento suministrado			80.37
Ganancia de Biomasa			48.60
			FCA 1.65
Peso inicial (g) /alevín			0.805
Nro. de días			15
Incremento de peso medio en (g)/día			0.027
Porcentaje de incremento en el periodo de 45 a 60 días			49.7%

El primer muestreo biométrico de los alevines diploides y triploides se realizó a la edad de 45 días, de donde se tomó una muestra de 20 alevines para una población de 150 y 120

alevines diploides y triploides respectivamente con los resultados siguientes para:

Alevines diploides: biomasa de 83.25 g, con una TA del 15 %, ración diaria de 2.25 g y 187.31 g alimento suministrado (Tabla 1).

Alevines triploides: biomasa de 48, con una TA del 15 %, ración diaria de 1.44 g y 108 g alimento suministrado (Tabla 2).

El segundo muestreo biométrico de los alevines diploides y triploides se realizó a la edad de 60 días, de donde se tomó una muestra de 20 alevines para una población de 150 y 120 alevines diploides y triploides respectivamente con los resultados siguientes para:

Alevines diploides: biomasa de 177.00 g, con una TA del 13 %, ración diaria de 4.60 g y 345.15 g alimento suministrado (Tabla 3)

Alevines triploides: biomasa de 96.60 g, con una TA del 13 %, ración diaria de 2.51 g y 188.37 g alimento suministrado (Tabla 4).

Los resultados de los muestreos biométricos a la edad de 45 y 60 días han permitido obtener el FCA de 1.68 para alevines diploides y 1.65 para alevines triploides; estos resultados son mejores – inferiores (1.84) a los que encontraron en la investigación “Evaluación del crecimiento de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) Tilapia nilótica en primer alevinaje, cultivada en estanques a dos densidades, en Curumuy, año 2014”, indicando que la asimilación del alimento por los alevines triploides es mejor. [11].

La validación de las características fenotípicas de la triploidización y diploída (grupo control) se llevó a cabo a través de muestreos biométricos a la edad de 45 y 60 días en la etapa alevín (Fig 6 y 7).

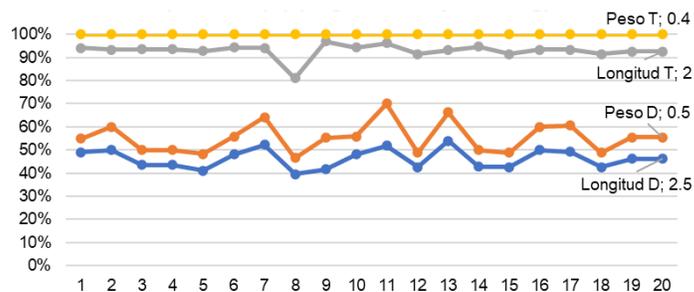


Fig. 6. Muestreos biométricos de alevines diploides (D) y triploides (T) a los 45 días.

Con los resultados expresados en las Figuras 6 y 7 se observa que los alevines triploides tienen: un mayor incremento en el peso (49.7 %) que los diploides (47.0 %), crecimiento uniforme y mejor performance, debido que la técnica de shock térmico aumenta la viabilidad y el rendimiento de los individuos triploides, estos efectos se reflejan en el metabolismo, fisiología, calidad de la carne y la preservabilidad. [12].

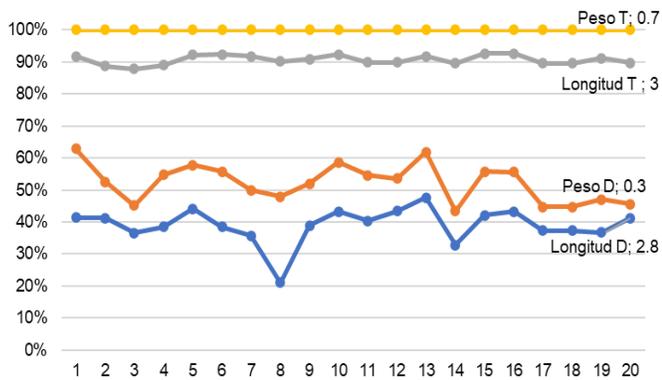


Fig. 7. Muestréos biométricos de alevines diploides (D) y triploides (T) a los 60 días.

Según los tratamientos realizados (planteados en el diseño experimental) se observa que el T2 (40 °C x 60 Segundos), presenta el mayor porcentaje de eclosión de ovas (86 %) y el T1 (39.5 °C x 30 Segundos) muestra el menor porcentaje de mortalidad de alevines triploides (11.8 %) (Fig 8).

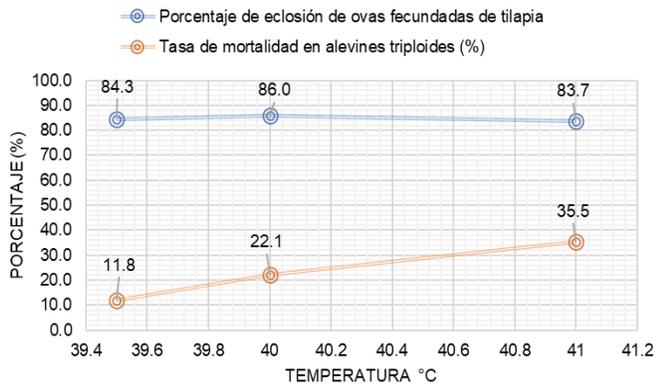


Fig. 8. Eclosión de ovas fecundadas triploides (%) y tasa de mortalidad de alevines triploides (%) hasta la edad de 60 días.

De acuerdo a los resultados obtenidos para la eclosión de ovas fecundadas el T2 (40 °C x 60 Segundos) es el mejor (86 %), con una tasa de mortalidad del 22.1 % en alevines. La mortalidad ha sido ocasionada por la turbidez del agua por la presencia de partículas que forman los sistemas coloidales; es decir, aquellas que, por su tamaño, se encuentran suspendidas y reducen la transparencia del agua disminuyendo el oxígeno y ocasionado la muerte [13], debido a las lluvias en el Caserío La Balsa – Namballe que afecta la calidad del agua del Módulo Piscícola La Balsa.

La mortalidad en alevines revertidos en estación llega al 25 %, sin embargo, dado la rusticidad de los animales y el gran rango de amplitud en los diferentes parámetros, un porcentaje de este tipo es crítico, pues estos animales cuentan con una alta probabilidad de adaptación[14], comparando con los resultados obtenidos los tratamientos 1 (11.8 %) y 2 (22.1 %) presentan valores inferiores.

IV. CONCLUSIONES

El tratamiento con mejores resultados para la eclosión de ovas fecundadas es el T2 (40 °C x 60 Segundos) con un valor del 86 %.

Se obtuvo un FCA de 1.68 para alevines diploides y 1.65 para alevines triploides en la etapa de 60 días.

Se obtuvo un mayor incremento en el peso (49.7 %) en alevines triploides comparado con los diploides (47.0 %), crecimiento uniforme y mejor performance.

La aplicación de shock térmico que induce a la triploidía en *O. aureus*, mediante la producción eco-amigable, reduce significativamente el uso de agua, alimentación y tiempo de crianza, así como reduce el impacto que se generaría al emplear androgenizantes en el alimento a suministrar a los peces para la reversión sexual de alevines, puesto que los desechos generados son vertidos en cuerpos de agua cercanos donde habitan especies hidrobiológicas endémicas de la zona y río Chinchipe.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Empresa World & Business Group S.R.L. al Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura (PNIPA) al permitir desarrollar la investigación Proyecto SIADÉ contrato N° 009-2022: “Tecnología reproductiva en producción de semilla alternativa de *Oreochromis aureus* por el método del shock térmico para validar su performance en la Acuicultura Rural”.

REFERENCIAS

- [1] FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. “El estado de los recursos genéticos acuáticos para la alimentación la agricultura en el mundo”.2019. <https://www.fao.org/3/CA5345ES/CA5345ES.pdf>.
- [2] H. A. Martinez, C. Celis y P. Cala. “Viabilidad y crecimiento de poblaciones diploides y triploides de tilapia nilotica, *Oreochromis niloticus*. LINEA GHANA”.Acta biológica Colombiana. N°09.pags:43-66. Colombia. 1995. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/33578/20678-76249-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [3] L.F Castillo. “Una Evolución de 20 Años, de la Incertidumbre al éxito doce Años después”. Cali, Valle, 2001.
- [4] P.Torres,G.B. Nucamendi, P.Pintos, y J.A.Montoya. “Masculinización de la Tilapia del Nilo, por inmersión en Fluoximesterona y Testostesterona enantato” http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692010000300005(accedido 12 de enero de 2024).
- [5] C.M. Murray, et.al, “Methyltestosterone alters sex determination in the American alligator (*Alligator mississippiensis*)”. General and Comparative Endocrinology. vol. 236.pp 63-69, set. 2016. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016648016302040>
- [6] R.D. Valbuena, B. E. Zapata y M.I. Triana. “Efecto del choque de temperatura y tiempo sobre la fertilización y sobrevivencia de larvas de bocachico (*Prochilodus magdalenae*) sometidos a tratamientos de triploidización”. Convenio 005 de 2014 INFIHUILA-USCO, Proyecto: “Determinación de protocolos para la obtención de triploides de

- bocahico (*Prochilodus magdalenae*) y evaluación preliminar de su desempeño temprano en condiciones de cautiverio, con fines de cultivo y repoblamiento en el alto magdalena (Departamento del Huila) Colombia".
<https://revistas.sena.edu.co/index.php/sennova/article/view/403/1939>
- [7] P. Capozza y H. Amaral. "Produção de tetraplóides de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) através da aplicação de choque térmico". Revista electrónica de Veterinaria. Vol. 10, Nº 10. pp. 1-13, 2009. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617128006>
- [8] M. Avila y E. Romagosa. "Effect of hot thermal shock in eggs of tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*): after-fertilization time and duration of the process in the survival of larvae", 2005. Boletim do Instituto de Pesca. v. 31, n. 1, p. 55-64, https://institutodepesca.org/index.php/bip/article/view/Carrilo_31_1 (Accedido: 8 de octubre de 2022).
- [9] R. E. Fernández. "Inducción del triploides por shock térmico en *Oncorhynchus mykiss* "Trucha arco iris" en el centro piscícola de Motil-La Libertad de Julio del 2005 a Julio del 2006". Tesis para optar el grado de biólogo pesquero. Universidad Nacional de Trujillo. 34p. 2006
- [10] J.P. Alcántar. "Fisiología de Peces Triploides". Lat. Am. J. Aquat.Res. vol.44. nº1. pp. 1-16.2016. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/lajar/v44n1/art01.pdf>
- [11] E. Cano. "Evaluación del Crecimiento de *Oreochromis niloticus* "Tilapia nilótica" en primer alevinaje, cultivada en estanque a dos densidades, en Curumuy". Universidad Nacional de Piura. Tesis de titulación. 2015
- [12] L.A. Perez , D.J. Penman y N. Bromage. "Parámetros Morfométricos de Interés Comercial en Trucha Arcoiris Triploide, *Oncorhynchus mykiss*". Rev.Aquatic . nº6.University of Stirling.1999.
- [13] J. Bautista. y J. Ruiz. "Calidad de agua para el cultivo de Tilapia en tanques de geomembrana". Revista Fuente, Año 3 No. 8 J 5 p. 2011. <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-08/2.pdf>
- [14] H. J, Muñoz y J.C, Bernal. "Estudio de la mortalidad de alevinos de tilapia roja (*Oreochromis spp*), cultivados en jaulas flotantes por Asociación Piscícola de Salvajina Morales (ASOPISMO), departamento del Cauca.Colombia. 2008. <http://repositorio.unicauca.edu.co:8080/handle/123456789/718>