

Incubación artificial de huevos embrionados de Tilapia Roja *Oreochromis sp.*

Camilo A. Prieto M¹, Zoot.; Martha Olivera Angel¹, Dr. Sci. Agr.

¹Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia, Grupo de Fisiología y Biotecnología de la Reproducción – Biogénesis. Medellín - Colombia*

(Recibido: 10 julio, 2001; aceptado: 18 enero, 2002)

Resumen

Los mayores problemas en la producción comercial de semilla de Tilapia son: Baja producción de huevos en cada desove, alta frecuencia de desoves, temprana madurez sexual, obtención de larvas y alevinos de diferentes tallas, baja fecundidad, tiempo invertido y desgaste energético durante el cuidado parental. Se ha observado que removiendo los huevos y las larvas, aun con saco vitelino, de la cavidad oral de las hembras para continuar la incubación artificialmente, resulta en una mejora de la productividad. Otro aspecto crítico, para propósitos industriales, es el tratamiento hormonal para reversión sexual, iniciando desde los desoves no sincronizados entre las hembras, y si el tratamiento de reversión no es eficiente, hace que en los estanques de crecimiento se encuentren animales de los dos sexos, y se presenten reproducciones indeseadas además de diferentes grupos en edad y tamaño lo que entorpece las labores de cosecha en los estanques. El objetivo de esta revisión es describir el sistema de incubación artificial de huevos de Tilapia como herramienta para resolver estas dificultades.

Palabras clave: *Incubación artificial, larvicultura, oreochromis, reproductores, semilla, tilapia roja.*

Producción tradicional

Las características aparentemente positivas de las tilapias como la maduración precoz, la facilidad de reproducción, la realización de puestas frecuentes y múltiples y el elevado nivel de cuidados parentales pueden formar también parte de la base de muchos desafíos que se presentan en los sistemas tradicionales de producción de semilla de tilapia. El primero de todos, la reproducción incontrolada que conduce a sobrepoblación, que frena el crecimiento en los tanques de engorde y la reproducción en los estanques de reproducción. En los sistemas de estanques de reproducción, la cantidad producida de larvas normalmente aumenta rápidamente después que los reproductores son introducidos y luego disminuye gradualmente (5). Este fenómeno se atribuye a dos

razones principales: Uno, es imposible recolectar todas las larvas liberadas, de forma que el estanque pronto estará superpoblado con los animales resultantes de las puestas precoces. Esto conlleva a un aumento en la competencia por el alimento y el espacio, que redonda en una disminución de la producción de semilla. También, se produce un considerable número de casos de canibalismo en larvas jóvenes por parte de larvas mayores que producen un descenso en la producción de semilla.

La segunda razón es que la puesta de las hembras no ocurre de forma sincronizada justo después que los nuevos reproductores introducidos completen su primera puesta. Como resultado, la producción de larvas se produce de forma continua, pero a un ritmo bajo. Debido a este comportamiento de puesta

* Dirección para solicitar reimpresos

asincrónica también se aumentan las probabilidades de que se produzca canibalismos entre las larvas.

La inversión de tiempo y energías por parte de las hembras en practicar los cuidados parentales también es causa de una inferior productividad en los sistemas de producción de tilapia. Como resultado, necesitan de un periodo de aproximadamente dos semanas para reacondicionarse antes de volver a desovar. Por tanto es necesario cualquier reducción en el periodo de incubación bucal o de reacondicionamiento para aumentar la productividad de los reproductores.

Conforme se intensifican los sistemas de engorde de tilapia, hay una creciente demanda de producción de larvas y alevines machos. Este método ampliamente practicado de producir sólo tilapias machos es mediante la reversión sexual por hormonas. Este método tiene la ventaja por el hecho que el sexo de la tilapia se determina en las primeras semanas después de la eclosión y puede ser influido por la administración de andrógenos (para producir lotes exclusivamente de machos) o estrógenos (para producir lotes exclusivamente de hembras) durante esas primeras semanas. La forma más difundida de administración es a través del alimento pero para que el tratamiento sea efectivo, las hormonas deben administrarse tan pronto como sea posible después de la eclosión. También es importante que los alimentos formulados con hormonas sean la principal fuente de alimento de las larvas(1).

Estas condiciones exigen que las larvas sean separadas de sus madres tan pronto como sea posible, lo que supone un considerable desafío en los sistemas tradicionales de producción de larvas de tilapia.

Los problemas resultantes para el operario de una *hatchery* de tilapia son la baja productividad de semilla, las poblaciones de individuos de tamaño no uniforme y el bajo éxito en la producción de poblaciones de un solo sexo(1).

En el sistema tradicional de producción, los animales se aparean asincrónicamente en el mismo estanque donde se incuban los huevos y eclosionan las larvas y posterior a la cosecha de las larvas, los reproductores se reacondicionan para el siguiente ciclo sin intervención por parte del productor (15).

En este sistema es imposible recolectar todas las larvas, de forma que el estanque pronto estará

superpoblado lo que aumenta la competencia por el alimento, el espacio y al canibalismo reduciendo la producción de semilla.

Las hembras de *Oreochromis* incuban las larvas en su boca durante 10 días, tiempo en el que no consumen alimento. Finalizada esta etapa, requieren dos semanas para reacondicionarse antes de volver a desovar (13), esto conduce a que los intervalos entre los desoves sean muy largos y se disminuye la vida reproductiva de las hembras.

Uno de los limitantes en el proceso de reversión sexual, es obtener una adecuada cantidad de postlarvas sexualmente indiferenciadas para iniciar el tratamiento hormonal correspondiente (1).

Ventajas de la incubación artificial

La principal ventaja de la incubación artificial es el control individual que se tiene sobre los lotes de huevos recolectados de cada hembra. Es decir, cada ovoposición de una hembra puede ser incubada separadamente del resto de los huevos (5).

El sistema de incubación artificial de huevos de Tilapia (4) es muy efectivo para producir una alta calidad de alevinos con un mínimo grado de manipulación (1), control sobre las condiciones físico-químicas del agua de incubación (12), mejor monitoreo de los reproductores en términos de producción de huevos y alevinos (7), así como el aprovechamiento del 100% de las larvas sexualmente indiferenciadas para someter a tratamientos hormonales de reversión sexual, con resultados por encima del 99% (15). Al poder incubar embriones de la misma edad, o con diferencia de edades muy cercanas, se obtienen poblaciones con diferencias de tamaño mínimas lo que evita problemas de canibalismo (8), además la técnica de incubación artificial permite un programa de selección eficiente por familias, y así se evita la disminución de la introgresión genética (15).

Desventajas de la incubación artificial

Una de las desventajas del sistema es la demanda de tiempo. También necesita que los reproductores sean manejados periódicamente y esto se traduce en un aumento de mano de obra. Logísticamente, no es posible aplicar el método de destete en estanques, en

tanques es más aplicable, pero son costosos de construir y manejar; las hapas, jaulas de red de malla fina, que pueden construirse de forma más sencilla y mantenerse en estanques o incluso en lagos y lagunas, han demostrado que son efectivos para el mantenimiento de reproductores (5).

Adicionalmente, se requiere de una infraestructura adecuada para el montaje del sistema de incubación y larvicultura que mantenga las condiciones de agua óptimas para obtener mejores resultados, esto aumenta los costos de producción.

Obtención de huevos para incubación artificial

La obtención de huevos para incubación artificial requiere de cinco pasos principales: 1- Acondicionamiento y siembra de reproductores. 2- Adaptación e incubación de los huevos. 3- Absorción del saco vitelino en bandejas. 4- Adaptación de las larvas a las bandejas y acostumbamiento al alimento. 5- Reversión sexual (15).

En Tailandia (5) y desde hace pocos años en Brasil (15), se acondicionan los reproductores en donde las hembras tienen un periodo de descanso, esto permite controlar también el crecimiento de las hembras y mantener lotes de reproductores de tallas homogéneas y de tamaño adecuado para no tener dificultades en la manipulación. Las hembras, son mantenidas en jaulas de malla a densidades elevadas (2,5 Kg/m²) durante 10 a 14 días donde reciben alimento balanceado en proporción de 2-3 % de la biomasa (2). Posteriormente se trasladan a las jaulas de reproducción, de mayor tamaño, donde permanecen de 5 a 7 días con los machos, a una densidad mas baja (6 peces/m²). En este periodo se pueden alimentar, en cuyo caso la cantidad de alimento es menor que en las jaulas de descanso. Una vez se recogen los huevos, en el día 5° o 7°, las hembras regresan nuevamente a las jaulas de descanso; mientras un lote de hembras está trabajando durante 5 o 7 días, debe haber dos lotes descansando durante 10 o 14 días. Los machos eventualmente pueden descansar (15).

Está muy bien establecido que el destete, la práctica de retirar los huevos y larvas recién eclosionadas de la boca de los reproductores de *Oreochromis* spp., dan como resultado el aumento de la producción de semilla. Watanabe *et al.* (1992) (15) compararon la producción de semilla de tilapia roja de Florida en

tanques de agua salobre entre los métodos de incubación natural y de destete y encontraron que el primero sólo obtenía una producción de 3.3 semillas/m²/día, mientras que el segundo método recogía 91.7 semillas/m²/día.

Incubación

Una vez revisadas las hembras, al día 5° o 7°, sus huevos fecundados son retirados de la cavidad oral (véase Figura 1) y son divididos en lotes dependiendo del estadio de desarrollo (15). Los huevos se desinfectan con soluciones yodadas, formalina, verde de malaquita o acriflavina, para evitar infecciones bacterianas, principalmente *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas fluorescens*, o de hongos como *Saprolegnia* sp., *Fusarium* sp. y *Trichoderma* sp., lo que puede disminuir los porcentajes de eclosión considerablemente (10,11).

Los huevos de las especies de *Oreochromis* se incuban en recipientes con fondo redondeado, lo cual permite la continua rotación de los huevos(5). Debido a su gran tamaño (1,4 – 2,2 mm) (3), y peso (3,8 – 7,8 mg) (8), tienden a caer rápidamente al fondo del recipiente por lo cual se debe mantener un flujo de agua constante, simulando el movimiento de rotación que los huevos sufren en la boca de la hembra (5).

Rana, 1988 (8), usando tablas vibratorias o recipientes cónicos con flujo de agua descendente (véase Figura 2), obtuvo resultados de hasta un 59% de sobrevivencia. Las principales pérdidas son debidas a daños físicos causado al corion de los huevos y algunas veces por stress debido a un imbalance osmótico y contaminación bacterial o por hongos (8, 11).



Figura 1. Recolección de huevos de las hembras



Figura 2. Incubadoras usadas para huevos de tilapia.

Incubadoras de 20 litros de capacidad, pueden ser usadas para incubar hasta 80.000 huevos con gran eficiencia en la utilización de agua (10.000 huevos requieren 1 l s^{-1} , comparado con cerca de 11 min^{-1} para 1000 huevos en incubadoras más pequeñas) (5).

La calidad del agua es importante para obtener buenos resultados durante la incubación, esta debe someterse a un proceso de filtración a través de filtros de gravilla o de arena, o un esterilizador de rayos UV con posterior recirculación del agua, para mantener las condiciones constantes (5,10).

Desarrollo

Los rangos de temperatura aconsejados en la etapa de incubación están entre $24\text{-}32^{\circ}\text{C}$, con un óptimo de $28\text{-}29^{\circ}\text{C}$; si se mantienen estas temperaturas constantes se pueden lograr supervivencias cercanas al 80% en aproximadamente 96 horas (5); el mismo autor reporta variaciones entre 6 días a 20°C hasta 2,3 días a $34,5^{\circ}\text{C}$.

Los estadios de desarrollo de huevos de *O. niloticus* hasta la eclosión han sido descritos por Rana, 1990 (9). Los huevos en estadios tempranos (2 células, 2-3 horas post-fertilización, blástula, 10-12 horas) son más tolerantes a cambios de temperatura que los cigotos en estadios avanzados (gastrulación 14-30 horas post-fertilización, cierre del blastoporo 30-48 horas), siendo la fase más crítica el momento de la eclosión (90-102 horas post-fertilización) (5). Rana, 1988 (8), describe en la fase de post-gastrulación disminución de la dureza del corion, ocasionada por stress térmico o contaminación con hongos y bacterias, o fracturas en las membranas que recubren el corion debido a stress mecánico (8).

Larvicultura

Después de la eclosión, las larvas emergen a la superficie y van abandonando las incubadoras para caer atrapadas en bandejas de poca profundidad que pueden ser utilizadas para mantenerlas hasta por 20 días, una vez nadan horizontalmente y comen activamente se trasladan a unidades más grandes como estanques o jaulas (5). Cada caja puede mantener de 10.000-20.000 larvas, alimentadas con alimento balanceado y formulado con hormonas estrogénicas o androgénicas que aseguren una alta tasa de reversión gonadal (5,15). El tiempo que toman las larvas en reabsorber su saco vitelino varía de 4 a 5,5 días(5), si se mantienen las mismas condiciones ambientales que se presentaron en el proceso de incubación.

Las bandejas con dimensiones $40 \times 25 \times 8 \text{ cm}$ de aluminio o plástico deben tener dos filas de perforaciones de 2 cm de diámetro y protegidos con malla fina a lo largo de cada lado de la bandeja, para evitar la fuga de las larvas contenidas en ellas (véase Figura 3). (5).

El principal riesgo durante la fase de larvicultura es la infección por *Trichodina sp.* o *Dactilogyrus sp.*, parásitos que atacan la piel y branquias, produciendo entre 70-80% de mortalidad en la población en un periodo de 10 días (5). Si se mantienen las condiciones del agua de buena calidad se minimiza este riesgo.

El sistema de las bandejas ha sido evaluado en términos del efecto del flujo de agua y densidad en cada bandeja sobre el comportamiento de las larvas y alevinos (6). Estos últimos sobrevivieron mejor a altos flujos de agua, aunque su tasa de crecimiento



Figura 3. Bandejas de 3 litros de volumen para mantener las larvas.

específico fue inverso. El crecimiento específico esta expresado por la siguiente formula:

$$\text{Crecimiento específico (\%/día)} = (\log_e W_{tx} - \log_e W_{to}) / (tx - to)$$

Donde W_{tx} = Peso promedio corporal a tx

W_{to} = Peso promedio corporal a to

tx = Momento final

to = Momento inicial

La supervivencia por bandeja es cercana al 90% a densidades entre 5000 a 12000 larvas, con flujos de 3 a 4 l min^{-1} , mientras que las mejores tasas de crecimiento específico se encuentran a bajos flujos de agua (2 l min^{-1}). Las larvas producidas en este sistema presentan mejor crecimiento (11%/día vs 8,3%/día) y sobrevivencia que las larvas producidas naturalmente (73% vs 98,4%) (6).

A modo de conclusión podríamos decir que este sistema de incubación ampliamente utilizado en países

asiáticos, ha abierto nuevos horizontes a países occidentales y regiones donde las explotaciones no cuentan con extensiones grandes de tierra o sus condiciones climáticas son muy extremas. Desde el punto de vista investigativo, la técnica se presta para realizar trabajos sobre desempeños genéticos superiores y mayor supervisión individual de los animales. Trabajos en granjas productoras de alevinos en Brasil, producen un millón de alevinos de tilapia/mes, aún en invierno, con tasas de eficiencia en reversión sexual del 99% (15). En Colombia, en los llanos orientales se está trabajando con este sistema de producción, y actualmente se evalúa su viabilidad económica puesto que la inversión inicial es elevada y requiere personal entrenado. Aun hay mucho por investigar sobre técnicas de manejo de los reproductores, sincronización de desoves, manipulación y desinfección de los huevos, sin embargo es una herramienta tecnológica de producción de alevinos promisoría ya que hace uso racional de agua y tierra.

Summary

Artificial incubation of Red Tilapia embryonated eggs

The major problems of traditional mass seed production in mouthbrooding tilapias are: Low egg production per spawning, high spawning frequency, early sexual maturing, low fecundity and the high investment in parental care, obtaining fry of different size. Collecting the eggs or the fry from the oral cavity of mouthbrooding females reared in large hapas suspended in fertilized ponds to continue the incubation artificially, has been found to be possible and commercially efficient. Another critical aspect for industrial purposes in culturing tilapia is the hormone treatment for sex reversion, since the spawn is not synchronized among the females. This leads to sex mixture, to undesirable reproduction in the growth pond, to different age groups and sizes, and to delayed harvest. The goal of this article is to describe the artificial incubation system of the tilapia eggs like tool to resolve this difficulty.

Keywords: Red tilapia; Artificial incubation; Broodfish; Hatchery; Oreochromis; Seed.

Referencias

1. Argue, B.J.; Phelps, R.P. Evaluation of techniques for producing hormone sex reversed Oreochromis niloticus fry. J. Aqua. Trop. 1996; 11:153-159.
2. Bhujel, R.C. A review of strategies for the management of Nile Tilapia (O. niloticus) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. Aquaculture 2000; 181:37-59.
3. Coward, K. and Bromage, N.R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. Reviews in Fish Biology and Fisheries 2000; 10:1-25.
4. Little, D.C.; Macintosh, D.J. and Edwards, P. Improving spawning synchrony in the Nile Tilapia Oreochromis niloticus. Aquacult. Fish. Mgmt. 1993; 24:339-405.
5. Macintosh, D.J. and Little, D.C. Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) In: Bromage, N.R. and Roberts, R.J. (eds). Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell Science Ltd. Oxford, U.K. 1995 pp. 278-320.
6. Rab, M.A. Intensive nursing of Nile Tilapia fry Msc thesis, Asian Institute of Technology, Bangkok. 1989.
7. Rana, K.J. An evaluation of two types of containers for the artificial incubation of Oreochromis eggs. Aquacult. Fish. Mgmt. 1986; 17:139-145.
8. Rana, K.J. Reproductive biology and the hatchery rearing of tilapia eggs and fry. In: Muir, J.F. and Roberts,

- R.J. (eds), Recent Advances in Aquaculture, Vol. 3 Crook Helm, London & Sidney. 1988; 343-406 pp.
9. Rana, K.J. Influence of incubation temperature on *O. niloticus* eggs and fry I. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. *Aquaculture* 1990; 87:165-181.
 10. Subasinghe, R.P. and Sommerville, C. Disinfection of *O. mossambicus* eggs against commonly occurring potentially pathogenic bacteria and fungi under artificial hatchery conditions. *Aquacult. Fish. Manag.* 1985; 16:121-127.
 11. Subasinghe, R.P. and Sommerville, C. Scanning electron microscopy study on the causes of mortality in *O. mossambicus* eggs under artificial incubation. *J. Fish. Diseases.* 1988; 11:409-416.
 12. Subasinghe, R.P. and Sommerville, C. Effects of temperature on hatchability, development and growth of eggs and yolksac fry of *Oreochromis mossambicus* (Peters) under artificial incubation. *Aquacult. Fish. Mgmt.* 1992; 23:31-39.
 13. Suresh, A. V. Recent advances in tilapia broodstock in: *Proceedings de Acuicultura* 99. Nov. 17-20 Puerta La Cruz (Venezuela). 1999; 13 p.
 14. Watanabe, W.O.; Smith, S.J.; Wicklund, R.I. y Olla, B.L. Hatchery production of Red Tilapia of Florida seed in brackishwater Tanks under natural-mouthbrooding and clutch-removal methods. *Aquaculture* 1992; 102:77-88.
 15. Zimmerman, S. Incubação Artificial. Técnica permite a produção de tilápias do Nilo geneticamente superiores. *Panorama de Aqüicultura.* 1999; Julho/Agosto: 15-21.