

Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de Diesel sobre *Oreochromis niloticus* mediante Bioensayo

Cristina Jines Muñoz¹ Marcelo Muñoz Naranjo²

Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales (FIMCBOR)¹

Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)

Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral

Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador

criyjine@espol.edu.ec¹; emunoz@espol.edu.ec¹.

Resumen

*El Diesel es una compleja mezcla que contiene hidrocarburos aromáticos policíclicos, que persisten después de un derrame y pasan rápidamente del agua a los tejidos de los organismos. En el presente estudio se detectó cambios en el comportamiento de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), se evaluaron lesiones histopatológicas de las branquias e hígado y se determinó la mortalidad de los peces ante diferentes concentraciones de Diesel. Se elaboró un ensayo estático de 96 horas con tres dosis diferentes de Diesel (513mg/L, 2050mg/L, 5125mg/L) más el tratamiento control. La mortalidad fue determinada por medio del modelo de probabilidad chi cuadrado, donde la alta sensibilidad de los especímenes se registró a las 96h, obteniendo como valores promedios de mortandad 5.3 (dosis baja), 6.3 (dosis media) y 7 (dosis alta). Mediante el programa estadístico SAS se analizó cuantitativamente las lesiones histopatológicas más sobresalientes, presentando en branquias e hígado degeneración celular y vacuolización lipídica respectivamente con valores de 95.83 y 91.66 para la dosis de 5125mg/L alcanzando el mayor daño a nivel de ambos órganos; mientras que telangiectasis en branquias y núcleos picnóticos en hígado no difirieron estadísticamente entre tratamientos.*

Palabras Claves: Diesel, *Oreochromis niloticus*, comportamiento, lesiones histopatológicas de branquias e hígado y mortalidad.

Abstract

*The Diesel is a complex mixture containing polycyclic aromatic hydrocarbons, which persist after a stroke and quickly pass water to the tissues of organisms. In the present study was detected changes in the behavior of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were evaluated histopathological lesions of gills and liver, finally determined the mortality of fish to different concentrations of Diesel. Developed a 96 hours static test with three different doses of Diesel (513mg/L, 2050mg/L, 5125mg/L) plus the control treatment. Mortality was determined using chi square probability model where high sensitivity of the specimens was recorded at 96h, obtaining average values of 5.3 (low dose), 6.3 (medium dose) and 7 (high dose). Using SAS statistical software was analyzed quantitatively most prominent histological lesions presenting in gills and liver degeneration and lipid vacuolization respectively with 95.83 and 91.66 values about the dose 5125mg/L reaching the highest level of damage to both organs, while telangiectasis in gills and liver pyknotic core did not differ among treatments.*

Keywords: Diesel, *Oreochromis niloticus*, behavior, histopathological lesions of gills and liver and mortality.

1. Introducción

Los ecosistemas naturales y las especies que los componen están siendo expuestos, en un periodo de tiempo muy breve, a multitud de factores y circunstancias que no constituyen elementos naturales de su hábitat [1]. Las actividades de la industria petrolera, a nivel mundial, son complejas debido a la diversidad de operaciones que implican su desarrollo, por lo tanto son consideradas como las de más alto riesgo y potencialmente contaminadoras [2].

La contaminación por petróleo puede producir impactos severos en los ambientes dulce-acuícolas [3], liberando sustancias tóxicas las que ocasionan, respuestas complejas en los organismos y precisan ser evaluadas. Para ello se han implementado los bioensayos, que son técnicas de evaluación de los efectos tóxicos agudos o crónicos, que miden el efecto de uno o más contaminantes sobre las especies identificando algún cambio en éstos por un cierto período de tiempo [4]. Las alteraciones en comunidades de peces, pueden determinarse mediante histología, que es un método rápido para detectar los efectos nocivos de contaminantes sobre todo de hidrocarburos en diversos tejidos y órganos [5].

Considerando que la tilapia es una fuente permanente de alimentación para la población rural y urbana, el tema propuesto tiene relevante importancia y este trabajo se realizó con el fin de evaluar y determinar el comportamiento, los daños y mortalidad de tilapia nilotica (*O. niloticus*), ante cualquier eventualidad contaminante, como derrames de combustibles refinados tal es el Diesel, que no sólo hace referencia a la contaminación del agua sino también al daño que éste provoca en nuestro sistema ecológico.

2. Organismo de Prueba

La elección de un organismo de prueba adecuado para un Bioensayo depende del efecto que se desea evaluar y de las características del organismo [6].

Esta debe cumplir una serie de criterios, como por ejemplo: disponibilidad en cantidad suficiente, que provengan de áreas libres de tóxicos, debe soportar bien las condiciones de laboratorio (facultad de adaptarse al estrés surgido por cambios del medio ambiente del mismo), amplia distribución geográfica, biología conocida y la talla debe adecuarse con las posibilidades de los elementos de experimentación [7].

Una de las especies de peces más comunes de agua dulce es *O. niloticus*, que es usada en estudios

toxicológicos, debido a que presentan una serie de características que pueden hacer un modelo adecuado para utilizarlo como indicador de especies en los programas de control biológico [8].

3. Hidrocarburos (Diesel)

El Diesel es un líquido de color amarillo y de aspecto aceitoso. Sus principales constituyentes son biodegradables, pero contienen componentes que son persistentes en el medio ambiente [9]. Las características del Diesel se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 1. Característica de Diesel indicado por EP Petroecuador 2011.

Característica	Unidad	Mínimo	Máximo	Método Ensayo
Punto de Inflamación	°C	51	—	INEN 1047
Gravedad API 25°C	°C	—	37.9	
Temperatura de Destilación 90%	°C	—	360	INEN 926
Agua y Sedimentos	% en V	—	0.05	INEN 1494
Índice de Cetano Calculado	—	45	—	INEN 1495
Residuo Carbonoso > 10%	% en peso	—	0.15	INEN 1491
Cenizas	% en peso	—	0.01	INEN 1492
Viscosidad Cinemática 37.8°C	cSt	2.5	6.00	INEN810
Contenido de Azufre	% en peso	—	0.7	INEN 1049

4. Tilapia nilótica (*O. niloticus*)

La tilapia pertenece a la familia Cichlidae, que prefiere aguas lénticas, someras, claras o turbias, cálidas, de fondo lodoso, tolera altas salinidades, incluso las marinas [8] [10]. Es un pez omnívoro, que se alimenta en ambientes naturales de una amplia variedad de ítems, desde plancton hasta detritus [11].

Sus características morfológicas (Fig. 1) comprenden un cuerpo comprimido lateralmente, escamas cicloideas, para su locomoción poseen aletas pares e impares, las pares: pectorales, ventrales y las impares: dorsal, caudal y anal. La boca es protráctil, mandíbula ancha con dientes cónicos [10], [11], [12].

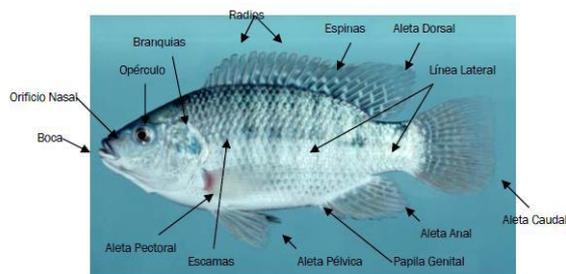


Figura 1. Estructura anatómica externa de *O. niloticus*. Fuente: Sincoagro, 2009.

El dimorfismo sexual en el caso de los machos, la papila genital presenta un solo orificio (uretra); mientras que las hembras, presentan dos orificios (uretra y oviducto genital) [13]. Durante la reproducción los machos comienzan a cavar hoyos en el fondo de los cuerpos de agua donde habitan, aproximadamente de 35cm de diámetro por 6cm de profundidad [8] [10]. La hembra es atraída hacia el nido donde es cortejada y luego deposita sus huevos (700 a 1000 huevecillos), para que inmediatamente después sean fertilizados por el macho [10] [14]. La hembra recoge los huevos fertilizados con su boca y se aleja del nido [14]. Antes de la eclosión los huevos son incubados de 3 a 5 días dentro de la boca de la hembra. Las larvas al nacer quedan en la cavidad bucal hasta la reabsorción de su vesícula vitelina y buscan a menudo refugio durante varios días, hasta después de inflar su vejiga natatoria [10] [15].

5. Técnicas Histológicas

Se llama técnica histológica a la serie de pasos que abarca desde el momento en que se toma el material hasta que el preparado puede observarse [16]. Entre estos pasos tenemos:

- Toma de material: Debe ser de un animal sano y normal, si es posible debe extraerse de un animal vivo y anestesiado, caso contrario, al menos han de extraerse él o los órganos sanos lo más rápidamente posible después de la muerte [16].
- Fijación: Operación destinada a “matar” las células, conservándolas, cuanto sea posible en el estado en que están durante la vida. Un tejido bien fijado mostrará células plenas, no vacuolizadas, ni hinchadas, ni arrugadas [16].
- Deshidratación: Los tejidos contienen grandes cantidades de agua, tanto intracelular como extracelular, que debe ser eliminada y reemplazada por parafina (16).
- Inclusión: consiste en encerrar cada pieza dentro de un bloque de parafina pura [16].
- Cortes: Consiste en reducir las piezas histológicas a delgadas secciones, por medio del micrótopo [16].
- Tinción: Consiste en realizar fácilmente visibles estructuras histológicas. Además, permite diferenciar los componentes celulares (núcleo, citoplasma, gránulos secretorios, etc.) [16].

6. Materiales y Métodos

Este trabajo de investigación, se realizó en el laboratorio EPA y Acuario del Instituto Nacional de Pesca (INP), para bioensayos y en el Centro de Servicios para la Acuicultura (CSA), los cortes histológicos. Se utilizó 166 individuos de *O. niloticus* machos, en etapa juvenil, que provienen de la

empresa acuícola PRODUMAR S.A., los mismos que fueron colocados en acuarios rectangulares de vidrio con capacidad de 35L, equipados con mangueras plásticas y piedras difusoras por donde pasaba el oxígeno del compresor de aire.

6.1. Aclimatación

Los organismos fueron sometidos a una aclimatación de nueve días bajo las mismas condiciones experimentales, entre ellas, temperatura (21-26°C), oxígeno disuelto (>3mg/L), pH (7), conductividad 36 (95.7µS/cm), estos parámetros se tomaron durante toda la etapa del proyecto. La alimentación de los organismos fue a base de balanceado una vez por día durante el proceso de adaptación, concluido este período de prueba. Se limpiaron diariamente todos los acuarios.

6.2. Ensayo

Para este estudio se usó 128 peces, con un longitud promedio de 7.4cm y un peso promedio de 7.02g. Los peces dejaron de ser alimentados 24 horas antes del inicio del ensayo y se colocó 10-11 peces en cada uno de los recipientes, los mismos que fueron expuestos a un ensayo estático de 96 h, que inició el décimo día, con cuatro tratamientos designados como T1 (dosis baja), T2 (dosis media), T3 (dosis alta) y T4 (control o testigo), cada uno con tres repeticiones. Estas dosis fueron calculadas utilizando la densidad del contaminante (Diesel) con un valor de 0.82 g/L.

6.3. Manejo del Experimento

Después de la aclimatación, se colocó en cada acuario 22L de agua potable, dejando que el cloro se evapore por 24h, se vertió Diesel según las dosis en el agua, sin homogenización ni renovación periódica de ésta, con aeración continua y manteniéndose la temperatura a 24°C aproximadamente. Se realizó la medición de los parámetros físicos durante el ensayo con el equipo Orion 5 Star. Se efectuaron a las 24h, 48h, 72h y 96h [17] las siguientes observaciones para *O. niloticus*: número de individuos muertos, pérdida de equilibrio, agresividad, letargo, falta de movimiento, pigmentación de ojos y piel.

6.4. Cortes histológicos

Los tejidos de peces fueron procesados por el método de [18]. Se procuró que la toma de muestras de los especímenes sea durante un estado agónico o en la etapa de deceso. Para este proyecto se diseccionó el tejido del segundo arco branquial izquierdo e hígado. Estas muestras fueron fijadas en frascos plásticos de 60ml con formalina buffer al 40% por 24 horas.

Luego de este procedimiento las muestras fueron cambiadas a etanol al 50%, inmediatamente se ubicaron en los cassettes histológicos, tanto tejido de hígado como branquias. Se deshidrataron las muestras con etanol a diferentes porcentajes, los lavados con el químico siguen un orden sucesivo: 70% (1-1h), 80% (1-1h), 95% (1-1h) y dos baños al 100% (2-1h, 24h). Al día siguiente, los cassettes fueron cambiados a 2 baños de xilol (100%) y después dos baños de parafina por una hora cada uno. Se formaron los bloques y se elaboraron cortes de 5 μ en el micrótopo Shandon Citadel 1000, los cuales fueron colocados primero en un recipiente con agua fría, donde se recogió la lámina con un portaobjetos y se colocó en otro recipiente con agua caliente para fijación de la placa, al final se dejó secar durante toda la noche en la estufa electrodérmica. Con la aplicación del método de tinción H&E de [18], se procedió la tinción con dos baños de xilol por 5min cada uno para eliminar la parafina. Inmediatamente se realizaron baños de etanol: 100% (2), 95% (2), 80% (1), agua destilada, posteriormente se tiñeron las placas con hematoxilina (H) y se retiró el exceso del colorante, a continuación se sumergieron las placas en etanol al 80%, para luego bañarlas en eosina (E), finalmente se pasaron por baños de etanol siguiendo un orden contrario: 95% (2) y 100% (2). Para finalizar se ejecutó 2 baños de xilol y se cubrieron los cortes teñidos con cubre-objetos, con la ayuda de una solución de resina (Paradon), procurando eliminar cualquier tipo de desperfecto en la placa.

7. Análisis de Resultados

7.1. Comportamiento

Las variables propuestas de comportamiento en los peces: falta de movimiento, pigmentación de piel y ojos, agresividad, pérdida de equilibrio, letargo, mostraron cambios a las 24h, 48h, 72h y 96h siendo más evidente en la última etapa de este estudio donde se obtuvo valores desde 83,3% hasta 100% en todas las dosis 513mg/L, 2050mg/L y 5125mg/L. La variable más notable en el testigo durante el bioensayo fue la agresividad, que presentó un valor del 50%. Cabe recalcar que la agresividad se puede presentar por la falta de alimento, por el estrés ante cualquier clase de contaminante al cual estaban sometidos los especímenes, así como por el territorialismo que defiende el área para atraer a las hembras [11].

7.2. Parámetros

El pH se mantuvo neutro aproximadamente, la temperatura del agua no tuvo gran variación, se planteo casi igual, durante esta etapa (23.9°C y

24.1°C). El oxígeno disuelto en el agua para la aclimatación, presentó variaciones en cada uno de los recipientes entre 5.18 y 7.29 mg/L, para *O. niloticus* lo recomendable es mantener niveles de oxígeno igual o superior a 3 mg/L [19], el porcentaje de saturación de Oxígeno estuvo entre un 62% y 87%. Estos valores indican que se alcanzó los niveles óptimos de oxígeno, siendo idóneos para la supervivencia y crecimiento de los organismos a prueba, durante el proceso de aclimatación. La conductividad del agua mostró variación para cada recipiente, con un promedio de 95.7 μ S/cm, calificando a esta agua poco mineralizada, ya que para este estudio se utilizó agua potable, por lo tanto había un bajo nivel de sales disueltas.

Durante el ensayo se recopilaron datos de los parámetros medidos de cada tratamiento cada uno de ellos con sus tres repeticiones, manteniendo la temperatura a un valor aproximado de 24°C para todos los tratamientos. El pH presentó niveles entre 7.14 a 7.72 manteniéndose cerca de la alcalinidad. La conductividad varió sus valores desde 91.3 μ S/cm a 127.6 μ S/cm, conservando una baja mineralización, es decir un nivel bajo de sólidos disueltos. El oxígeno disuelto disminuyó considerablemente obteniendo niveles desde 1.57mg/L a 6.78mg/L, siendo el valor más bajo para la dosis más elevada de 5125mg/L. El porcentaje de saturación resultó elevado para el tratamiento control con el 80.5% y el más bajo fue para el tratamiento de dosis 5125mg/L con el 20.1%.

7.3. Histopatología

Para realizar estas pruebas se tomaron muestras de los peces que se sometieron a las dosis estudiadas, para determinar mediante cortes histológicos daños en las branquias e hígado de cada uno de los tratamientos en estudio, estas pruebas se realizaron 96 horas después de las aplicaciones. Los resultados se presentan en (Tabla 3), que representan los cambios histológicos observados en los juveniles de *O. niloticus* expuestos a diferentes dosis de Diesel: 513mg/L, 2050mg/L y 5125mg/L más el tratamiento control.

Tabla 3. Cambios histológicos observados en juveniles de *O. niloticus* expuestos a diferentes concentraciones de Diesel. Fuente: Cristina Jines.

Tratamiento (mg/L)	Branquias	Hígado
513	En la mayoría de las muestras hay presencia de telangiectasis y degeneración celular del arco branquial	Presentaron marcada dilatación sinusoidal, hepatocitos binucleados, aparición reciente de núcleos picnóticos y una ligera vacuolización lipídica
2050	Algunas muestras presentan levantamiento epitelial, hiperplasia interlamelar, fusión de laminillas, degeneración celular del arco branquial y telangiectasis en ciertas partes del arco branquial	Número elevado en la formación de vacuolas (vacuolización lipídica), necrosis ligera en hepatocitos y núcleos picnóticos
5125	Degeneración celular completa (arco branquial) presencia de telangiectasis	Vacuolización lipídica intensa, núcleos picnóticos, degeneración nuclear, en ciertas muestras se presentó necrosis de hepatocitos
Testigo	Branquia normal, ninguna lesión patológica observada	Hígado normal, ninguna lesión patológica observada

Las branquias y el hígado son considerados como órganos blancos para analizar cambios histológicos, a continuación se detalla de mejor manera (Fig. 2 y 3) el tejido normal así como el lesionado.

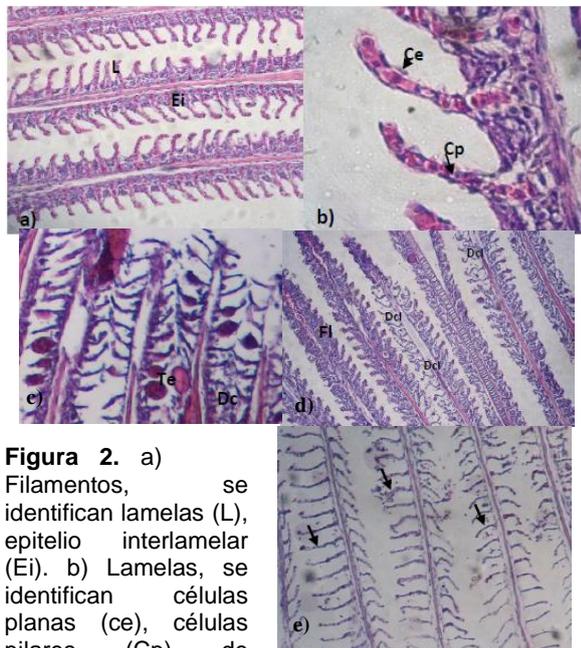


Figura 2. a) Filamentos, se identifican lamelas (L), epitelio interlamelar (Ei). b) Lamelas, se identifican células planas (ce), células pilares (Cp) de branquia de pez control (*O. niloticus*) H&E 100X. c) Branquia expuesta a 513mg/L. Filamentos con presencia de telangiectasis (Te) y degeneración celular de arco branquial (Dc) ligera H&E 10X. d) Branquia expuesta a 2050mg/L. Filamento, hiperplasia interlamelar (flechas), levantamiento epitelial (flechas), fusión lamelar (Fl) y degeneración celular de arco branquial (Dc) H&E 10X. e) Branquia de expuesta a 5125mg/L. Filamentos indicando degeneración celular del arco branquial (flechas) H&E 10X. Por Cristina Jines.

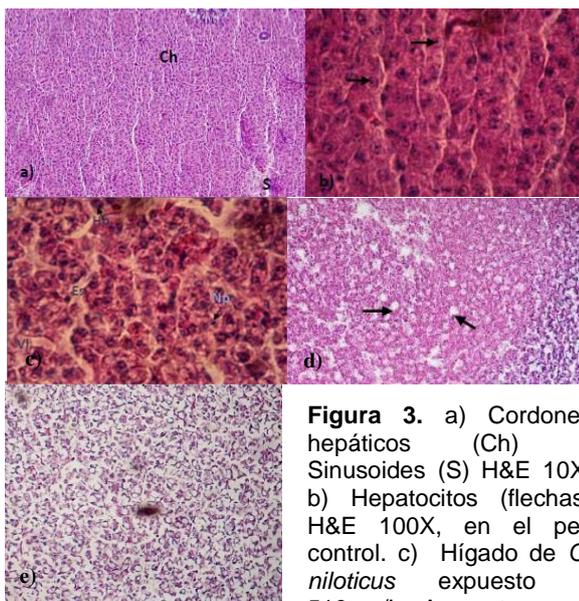


Figura 3. a) Cordones hepáticos (Ch) y Sinusoides (S) H&E 10X. b) Hepatocitos (flechas) H&E 100X, en el pez control. c) Hígado de *O. niloticus* expuesto a 513mg/L. Aumento en el espacio sinusoidal (Es), Hepatocitos binucleados (Hb), presencia tenue de núcleos picnóticos (Np) y

vacuolización lipídica (VI), H&E 100X. d) Hígado expuesto a 2050mg/L. Las vacuolas ocupan la mayor parte del parénquima hepático (flechas) H&E 10X. e) Hígado expuesto a 5125mg/L. Presencia de vacuolas en todo el parénquima H&E 10X. Por Cristina Jines.

7.4. ANOVA

Las lesiones observadas tanto en branquias como en hígado de la especie *O. niloticus* mostraron los siguientes resultados (Tabla 4). La primera lesión degeneración celular (arco branquial), indicó que el tratamiento 3 con concentración de 5125mg/L, alcanzó el mayor daño a nivel de branquias con valor de 95.83, seguido de los tratamientos 2 (2050mg/L) y 1 (513mg/L) que alcanzaron valores de 70.83 y 20.83 respectivamente, todos los tratamientos difieren estadísticamente del testigo con valor 0, que no presentó degeneración celular a nivel de branquias. La Telangiectasis no difiere estadísticamente entre los tratamientos en estudio, es decir no se registró deterioro de manera considerable en dicho órgano. En el hígado, la primera lesión, vacuolización lipídica, muestra como el tratamiento 3 con dosis de 5125mg/L y 2 2050mg/L ocasionaron el mayor daño a nivel hepático con valor de 91.66, seguido de los tratamientos 2 con 70.83, ambos tratamientos no difieren estadísticamente, pero sí de el tratamiento 1 y del testigo con valores de 33.33 y 0 respectivamente, presentando grado mínimo de deterioro o nada. Los núcleos picnóticos, para los tratamientos 3, 2 y 1 con valores de 62.50, 41.66 y 37.50 respectivamente, difieren estadísticamente del testigo con valor 0, indicando que el daño fue similar en los tres tratamientos, pero el testigo no presentó dicha lesión.

Tabla 4. Resultados obtenidos de la cuantificación de lesiones histológicas en branquias e hígado, por medio del programa estadístico SAS. Fuente: Cristina Jines.

TRATAMIENTOS	BRANQUIAS		HIGADO	
	DEGENERACIÓN CELULAR (LAMELAS)	TELANGIECTASIS	VACUOLIZACION LIPIDICA	NUCLEOS PICNOTICOS
T1 (513mg/L)	20.83 c	20.83 a	33.33 b	37.50 a
T2 (2050mg/L)	70.83 b	29.16 a	70.83 a	41.66 a
T3 (5125mg/L)	95.83 a	25 a	91.66 a	62.50 a
T4 (Testigo)	0 d	0 a	0 c	0 b
C.V%	13.33	63.83	18.05	32.22
F. calculada	**	NS	**	**

7.5. Mortalidad

La ausencia de mortalidad a las 24h y 48h en cada uno de los tratamientos, con valores de chi cuadrado de 0.622 y 3.430 podemos deducir la no significancia entre tratamientos, a pesar que estos numéricamente pueden ser diferentes, las dosis todavía no afectan

considerablemente a los organismos durante este periodo de tiempo. A las 72h se obtuvo un valor de chi cuadrado de 8.277 al hacer una comparación con los valores críticos de los niveles de confianza establecidos, resultó que $7.81 < 8.277 < 11.34$, por lo tanto todos los tratamientos resultaron significativos, dicho de otra manera la mortalidad en este lapso de tiempo se hizo evidente, sobre todo en el tratamiento 3 con un índice de mortandad promedio de 5. Mientras que a las 96h la mortalidad evidente, con un valor de chi cuadrado que fue mayor a los valores críticos de ambos niveles de confianza ($7.81 < 17.581 > 11.34$), resaltando como altamente significativos entre tratamientos, donde el mayor índice de mortandad fue el tratamiento 3 seguido de los tratamientos 2 y 1, cuyo valores promedios fueron de 7, 6.3 y 5.3 respectivamente.

8. Discusión

Los derrames de Diesel a menudo se consideran un riesgo de toxicidad aguda para los organismos acuáticos, debido a que presenta mayor concentración de fracciones volátiles. Algunos de estos componentes pueden producir efectos narcóticos en animales hídricos en concentraciones cerca a su solubilidad acuosa [20] [21]. Los juveniles de la especie *O. niloticus* expuestos a diferentes concentraciones de Diesel presentaron mortalidad a las 72h y 96h después de iniciado el ensayo mediante chi cuadrado, estos resultados fueron comparables con los reportados en alevines de la misma especie utilizando el mismo contaminante donde se presentó mortandad a las 96h, mediante un análisis estadístico diferente como CL50 [22]. El nivel de oxígeno disuelto disminuyó durante el ensayo practicado en los peces, donde los valores variaron desde 1.57mg/L a 6.78mg/L; a diferencia de los niveles de pH que no tuvieron gran variación. Alevines de *O. niloticus*, fueron también expuestos a varias dosis de Diesel, obteniendo como resultados valores similares de este parámetro (4.5mg/L a 7.2mg/L), así mismo el pH no fue afectado adversamente [22]. El comportamiento de los peces expuestos al contaminante se determinó en agresividad, cambios en la pigmentación de la piel, pérdida de equilibrio, período de inactividad (letargo) y finalmente la muerte.

El estudio histopatológico de las branquias mostraron anomalías estructurales tales como hiperplasia interlamina, fusión de laminillas, levantamiento epitelial, degeneración celular de arco branquial y telangiectasis. Esto corrobora algunos trabajos elaborados con la misma especie expuesta a contaminantes diferentes, como exposición de polvo de cemento en solución y Deltamethrin, determinando lesiones similares en el órgano [23] [24]. Mientras que los resultados obtenidos de las

lesiones hepáticas en los organismos expuestos a Diesel, fueron vacuolización lipídica y núcleos picnóticos en los tres tratamientos, estudios evaluados en tilapia nilótica mostraron lesiones idénticas en este órgano, con la única diferencia el contaminante utilizado (Glifosato) y las concentraciones, quienes utilizaron solo dos [25]. Varios resultados han demostrado que en la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) a concentraciones bajas de diesel no presenta ningún cambio histológico a menos que estas sean iguales o mayores a 10000mg/L de este tóxico [20].

9. Conclusiones

Se identificó los cambios de comportamiento tales como: pigmentación de piel y ojos, agresividad, pérdida de equilibrio, letargo y falta de movimiento de *O. niloticus* que fueron sometidas a diferentes concentraciones de Diesel.

Se presentaron algunos efectos histopatológicos en branquias e hígado siendo las más sobresalientes: degeneración celular del arco branquial y telangiectasis para branquias y vacuolización lipídica y núcleos picnóticos para hígado.

Se evaluó cada una de las concentraciones de Diesel para la supervivencia de los organismos, donde los mismos no sobreviven, mientras sean expuestos a una mayor concentración de contaminante en un periodo de tiempo prolongado.

Se obtuvo diferentes índices de mortalidad en cada uno de los tratamientos, presentándose el más alto a las 96h de exposición al contaminante.

10. Agradecimiento

Los autores agradecen al Instituto Nacional de Pesca por facilitar sus instalaciones para la realización de este proyecto y al Centro de servicios para la acuicultura (CSA) para realizar los cortes histológicos de la especie *O. niloticus*.

11. Bibliografía

- [1] Bohórquez, P. y Campos, C. 2007. Evaluación de *Lactuca sativa* y *Selenastrum capricornutum* como indicadores de toxicidad en aguas. Revista de la Facultad de Ciencias Pontificia Universidad Javeriana. Vol. 12 N°2. pp. 84, 85, 87, 94.
- [2] Osorio, A. y Célis, H. 1992. La industria petrolera en el ámbito internacional y el medio ambiente. La industria petrolera ante la regulación jurídico-ecológica. Primera Edición. México D.F. pp. 211-213.

- [3] Arcos, V. y Castro, R. 2005. Metales pesados en agua, sedimentos y organismos; Revista de Ciencias Naturales y Ambientales; Vol.1 N°1; pp.103-109.
- [4] Silva, J. et al. 2007. Estandarización del bioensayo de toxicidad aguda con *Diplodon chilensis* usando un tóxico de referencia. Revista Gayana-Concepción Chile. Vol.71 N°2. pp.135-141.
- [5] Vieira, R. et al. 2010. Deleterious effects of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasolina on marine pjerrey *Odontesthes argentinensis* larvae. Science of the Total Environment. Vol.408. pp. 2054-2059. www.elsevier.com/locate/scitotenv.
- [6] Espinoza, C. (s.f.). Bioensayos de toxicidad aguda y crónica con especies marinas de la costa chilena. Centro de estudios y gestión ambiental-Instituto de investigación pesquera. Consultado 27 de septiembre 2011. Disponible en: www.inpesca.cl.
- [7] Catala, M. et al. 2010. Bioensayo de toxicidad ambiental basado en helechos. Universidad Rey Juan Carlos. Consultado 29 de septiembre 2011. Disponible en: <http://patentados.com/patente/bioensayo-de-toxicidad-ambiental-basado-en-helechos/>.
- [8] Plutarco, C. y Bernal, G. 1997. Ecología y adaptaciones de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en ambientes naturales -caso embalse de Betania y ciénaga de Chilloa, sistema del río Magdalena, Colombia. Revista Asociación Colombiana Ictiológica. N°2. pp. 3-29.
- [9] Vivanco, D. y Guayaquil, G. 2007. Unidad de protección ambiental y seguridad industrial: Hoja de seguridad-MSDS-DIESEL 2. Petrocomercial. Versión 00. pp. 3, 6, 12-15.
- [10] Reisman, F. y Reisman, S. 1981. Inducción al crecimiento en tilapia nilótica. Universidad Autónoma Metropolitana. México D.F. pp. 3,6-9.
- [11] Sincoagro S.C. 2009. Manual de producción de tilapia con especificaciones de calidad e inocuidad. pp. 10, 11, 17. Consultado 27 de septiembre. Disponible en: <http://www.funprover.org/formatos/cursos/manual%20buenas%20practicas%20acuicolas.pdf>
- [12] Barrera, R. y Paz, C. 2006. Control de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Perciforme: Cichlidae) usando guapote lagunero (*Parachromis dovii*) (Perciforme: Cichlidae) en los estanques de la Universidad Earth. Tesis de Ingeniero. Costa Rica. pp. 20-22.
- [13] Marcillo, E. y Landívar, J. 2008. Tecnología de producción de alevines monosexo de tilapia. Primera Edición. ESPOL. Guayaquil. pp. 23, 27, 28, 39.
- [14] Saavedra, M. 2006. Manejo del cultivo de tilapia. CIDEA. Nicaragua. pp. 3-7.
- [15] Acerca del cultivo de tilapia nilótica y tilapia roja. 2001. pp. 1-16. Consultado 04 de octubre 2011. Disponible en: <http://www.tilapiasdelosur.com.ar/downloads/AcercaDelCultivoDeTilapiaNiloticaYTilapiaRoja.pdf>
- [16] Alzola, R. 2001. Curso de Histología, Embriología y Teratología, guía de estudio: técnicas histológicas. Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires-Argentina. pp. 1-15.
- [17] De Mahieu, G., Mascitti, G. y Jaffe, K. 1981. Efecto del petróleo crudo sobre los moluscos comerciales litorales *Donax denticulatus* y *Crassostrea rhizophorae* en Venezuela. Thirty-Third annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute. Miami-USA. pp. 125-139.
- [18] Roberts, R. 1978. Fish Pathology. Bailliere Tindall-London. Casell Ltd. pp. 235-241.
- [19] Navarro, A. 2002. Ensayo de dos modelos de policultivo empleando bagre (*Ictalurus punctatus*) tilapia híbrida (*Oreochromis niloticus* vs. *Oreochromis mossambicus*) y langostino (*Macrobrachium tenellum*), en estanques semi-rústicos caso Jocotepec, Jalisco. Tesis de Maestro en Acuicultura. Universidad de Colima. México. pp. 11-13.
- [20] Schein, A. et al. 2009. Oildispersion increases the apparent bioavailability and toxicity of Diesel to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environmental Toxicology and Chemistry. Vol.28 N°3. pp. 595-602.
- [21] Vera, G et al. 2009. Efectos ecotoxicológicos del petróleo cerudo, Diesel 2 y kerosene sobre el crecimiento poblacional de la microalga *Chaetoceros gracilis* Schutt. Ecología Aplicada. Vol.8 N°1. pp. 3-7.
- [22] Dede, E. y Kaglo, H. 2001. Aqua-toxicological effects of wáter soluble fractions (WSF) of Diesel fulo n *O. niloticus* fingerlings. Sciences Environmental Mgf. Vol. 5 N°1. pp. 93-96.
- [23] Adamu, K et al. 2008. Toxicity and histopathological effects of Portland cement poder in solution on the structure of the gill and liver tissues of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: a microscopic study. Tropical Freshwater Biology. Vol.7 N°1. pp. 1-12.
- [24] Yildirim, M. et al. 2006. Acute toxicity, behavioral changes, and histopathological effects of Deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Environmental Toxicology. Vol. 21 N°6. pp. 614-620.
- [25] Jiraungkoorskul, W. et al. 2003. Biochemical and histopathological effects of Glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Environmental Toxicology. Vol. 18 N°4. pp. 260-267.