



Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

**Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y
Acuicultura**

**ALTERACIÓN HISTOPATOLÓGICA EN ALEVINES DE TILAPIA
(*Oreochromis niloticus*) EXPUESTOS AL CLORURO DE CADMIO EN
ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA, 2018**

Línea de investigación: Desarrollo de productos de la acuicultura

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Pesquero Acuicultor

AUTORA

Mallma Vivanco, Natali Sofia

ASESOR

Zambrano Cabanillas, Abel Walter

JURADO

Moreno Garro, Víctor Raúl

Hinojosa Blanco, Ignacio Leonidas

Llontop Velez Carlos

Lima- Perú

2020

Dedicatoria

La presente tesis es dedicada a nuestro Dios por sus bendiciones y fortaleza recibida, al permitirme continuar con esta etapa profesional.

A mis padres y hermanos, por su amor, por la comprensión permanente y por su guía.

Y, a todos mis compañeros de estudios que compartieron las experiencias y conocimiento de nuestra carrera profesional

Agradecimientos

*A mis docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería en Acuicultura que propiciaron y cultivaron la inquietud de la investigación, que me permite desarrollar la autoría de tesis en la especie de alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*.*

Me gustaría, que estas líneas sirvieran, para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización de la presente tesis, en especial al Dr. Abel Walter Zambrano Cabanillas, asesor de esta investigación, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido en el análisis y discusión en cada etapa de la tesis, a lo largo de estos meses.

*Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibidos de mi familia,
A todos ellos, muchas gracias*

Índice de Contenidos

Contenido	Pág.
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
Índice de anexos	xi
Resumen	xii
Abstract	xiii
I. Introducción	01
1.1. Descripción y formulación del problema	02
1.2. Antecedentes	04
1.3. Objetivos	05
1.3.1. Objetivo general	05
1.3.2. Objetivos específicos	05
1.4. Justificación	06
1.5. Hipótesis	10
II. Marco teórico	11
2.1. Tilapias	11
2.1.1. Tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	11
2.1.2. Anatomía e histología del hígado, bazo, riñón, branquias y músculos de <i>Oreochromis niloticus</i>	14
2.2. Metal pesado: cloruro de cadmio (Cd)	18

2.2.1. Concentraciones de cloruro de cadmio	19
2.2.2. Efectos orgánicos del cloruro de cadmio	19
2.3. Resultados histopatológicos en las tilapias	21
2.3.1. Bioensayos	23
2.3.2. Relación dosis - respuesta	24
2.4. Conceptos básicos	25
III. Método	28
3.1. Tipo de investigación	28
3.2. Diseño de investigación	29
3.3. Ámbito temporal y espacial	29
3.4. Variables	30
3.5. Población y muestra	31
3.6. Instrumentos	31
3.7. Procedimientos	32
3.7.1. Obtención de alevinos, transporte y aclimatación	32
3.7.2. Biometría	33
3.7.3. Preparación de los acuarios	34
3.7.4. Preparación de las concentraciones de cloruro de cadmio	34
3.7.5. Bioensayo	35
3.7.5.1. <i>Bioensayo preliminar</i>	35
3.7.5.2. <i>Diseño experimental</i>	36
3.7.5.3. <i>Bioensayo final</i>	37
3.7.6. Procesamiento de los peces seleccionados	37

3.7.6.1. <i>Preparación de la muestra para el proceso histológico</i>	37
3.7.6.2. <i>Disección de los especímenes</i>	37
3.7.6.3. Fijación de las muestras y análisis histopatológicos	40
IV. Resultados	42
4.1. Análisis de datos	42
4.2. Determinación de lesiones de branquias	44
4.3. Determinación de lesiones en músculos	50
4.4. Determinación de lesiones de bazo	51
4.5. Determinación de lesiones de hígado	52
V. Discusión de resultados	54
VI. Conclusiones	55
VII. Recomendaciones	56
VIII. Referencias bibliográficas	57
IX. Anexos	63

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Datos para el cálculo de la ración alimenticia para peces</i>	33
Tabla 2. <i>Preparación de diluciones para el bioensayo.</i>	35
Tabla 3. <i>Distribución de las tilapias en los acuarios</i>	36
Tabla 4. <i>Resultado histopatológico de hallazgos en bazo de tilapias</i>	42
Tabla 5. <i>Resultado histopatológico de hallazgos en branquias de tilapias</i>	43
Tabla 6. <i>Resultado histopatológico de hallazgos en hepatopáncreas de tilapias</i>	43
Tabla 7. <i>Resultado histopatológico de hallazgos en músculos de tilapias</i>	44
Tabla 8. <i>Presencia de lesiones en branquias, en relación a la concentración de cloruro de cadmio</i>	49
Tabla 9. <i>Presencia de lesiones en músculos, en relación a la concentración de cloruro de cadmio</i>	51

Índice de figuras

<i>Figura 1.</i> Toxicología del cadmio. Esquema toxicocinético.	18
<i>Figura 2.</i> Toxicología del cadmio. Toxicocinética.	22
<i>Figura 3.</i> Curva de relación dosis - respuesta /Albert 1997)	25
<i>Figura 4.</i> Etapas de la Investigación tipo cualitativa	28
<i>Figura 5.</i> Conservación de las muestras de biopsias de los tejidos parafinados de los alevines <i>Oreochromis niloticus</i>	30
<i>Figura 6.</i> Vista superior del acuario	34
<i>Figura 7.</i> Distribución de acuarios	35
<i>Figura 8.</i> Observación externa del pez.	38
<i>Figura 9.</i> Disección del opérculo de las branquias del pescado	38
<i>Figura 10.</i> Frasco con formol para la colocación de la muestra tomada	39
<i>Figura 11.</i> Disección abdominal del pez	40
<i>Figura 12.</i> Modelo de identificación de los frascos de las muestras biológicas, y Formulación propia.	40
<i>Figura 13.</i> Filamentos branquiales del grupo control, con presencia escasa de edema perilamelar (Ep).	45
<i>Figura 14.</i> Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,02 mg/l, se aprecia leve edema perilamelar (Ep), leve congestión (C).	46
<i>Figura 15.</i> Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,02 mg/l, con moderada atrofia de lamelas (Al), escasa hiperplasia de lamelas (Hp) y escasa fusión de lamelas (Fl).	46

<i>Figura 16.</i> Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,04 mg/l, atrofia de lamelas (Al), hiperplasia de lamelas (Hp) y fusión de lamelas (Fl).	47
<i>Figura 17.</i> Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,04 mg/l, hiperplasia de lamelas (Hp) y congestión (C).	47
<i>Figura 18.</i> Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,06 mg/l, hiperplasia de lamelas (Hp), congestión (C), edema perilamelar (Ep), atrofia de lamelas (Al), fusión de lamelas (Fl)	48
<i>Figura 19.</i> Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,08 mg/l, hiperplasia de lamelas (Hp), congestión (C), edema perilamelar (Ep), atrofia de lamelas (Al), fusión de lamelas (Fl)	48
<i>Figura 20.</i> Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,1 mg/l, hiperplasia de lamelas (Hp), congestión (C), atrofia de lamelas (Al), fusión de lamelas (Fl)	49
<i>Figura 21.</i> Musculatura esquelética del grupo control, necrosis (N), congestión (C), infiltración de células inflamatorias (Ic)	50
<i>Figura 22.</i> Musculatura esquelética en los peces expuestos a una concentración de 1,0 mg/l. granuloma (G)	50
<i>Figura 23.</i> Bazo de peces del grupo control. Sin presencia de lesiones	51
<i>Figura 24.</i> Bazo de los peces sometidos a concentraciones de 0,08 mg/l, granulomas (G)	52
<i>Figura 25.</i> Hígado del grupo control, degeneración grasa (Dg), necrosis (N), degeneración grasas	52

Figura 26. Hígado de las tilapias expuesto a 0,1 mg/l, granuloma (G),
degeneración hidrónica (Dh)

x

53

Índice de anexos

Anexo 1. Los efectos del cadmio en la salud	63
Anexo 2. Determinación de arsénico y cadmio en aguas del río Rímac y habas cultivadas en el distrito de San Mateo de Huánchor de la región de Lima	64
Anexo 3. Contaminación de aguas por metales pesados	66
Anexo 4. Descripción anatómica, histológica y ultra estructural de la branquia e hígado de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	69
Anexo 5. Tabla de alimentación para tilapia	71
Anexo 6. Ficha de observación	72
Anexo 7. Ficha de observación	74
Anexo 8. Coloración de hematoxilina –eosina (H&E)	76

Los metales pesados constituyen los mayores contaminantes químicos del ambiente, entre ellos el cloruro de cadmio que se encuentra con frecuencia en alimentos, agua y aire, estos pueden ser transferidos a otros lugares y permanecer en solución acumulados en los sedimentos de las aguas de los ríos o estuarios. Los metales pesados disueltos en las aguas producen sofocamiento en los peces debido a los precipitados o coagulados de mucoproteínas sobre el epitelio branquial bloqueando el intercambio de gases, la excreción de productos de desecho y la osmorregulación; ocasionándoles inmunotóxicidad y posibles efectos carcinogénicos. En Lima el cultivo de tilapia *Oreochromis niloticus* es rentable por su bajo costo de producción y fácil cultivo, a esto se agrega que estudios estiman que las aguas del río Rímac contienen cadmio en concentraciones de 0,064 mg/l. El objetivo es determinar los daños histopatológicos causados por la exposición a diferentes concentraciones de cloruro de cadmio en concentraciones desde 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 a 0,10 mg/l en alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*. Se aplicó el diseño experimental en 120 alevinos de tilapia *Oreochromis niloticus* durante un periodo de 10 días, expuestos a diferentes concentraciones de cloruro de cadmio aplicadas a los estanques de agua con control de su alimentación y los parámetros fisicoquímicos. El estudio histológico obtenido en los tejidos de branquias, bazo, hígado y músculo mostraron la presencia de granulomas, fusión lamelar, hiperplasia de tejido y tejido necrótico a consecuencias de la bioacumulación por la exposición a concentraciones de cloruro de cadmio mayor a 0,06 mg/l. En Conclusión, existe una relación directamente proporcional entre el tiempo de exposición a diferentes concentraciones de cloruro de cadmio y las respuestas histológicas en los tejidos de los alevinos de tilapia *Oreochromis niloticus*.

Palabras clave: Tilapia *Oreochromis niloticus*, cloruro de cadmio, intoxicación.

Abstract

Heavy metals are the major chemical pollutants in the environment, including cadmium chloride that is frequently found in food, water and air, these can be transferred to other places and remain in solution accumulated in the sediments of water from rivers or estuaries. The heavy metals dissolved in the waters cause suffocation in the fish due to the precipitates or coagulates of mucoproteins on the branchial epithelium, blocking gas exchange, the excretion of waste products and osmoregulation; causing immunotoxicity and possible carcinogenic effects. In Lima, the cultivation of tilapia *Oreochromis niloticus* is profitable due to its low production cost and easy cultivation, to this is added that studies estimate that the waters of the Rímac River contain cadmium in concentrations of 0.064 mg/l

To determine the histopathological damage caused by exposure to different concentrations of cadmium chloride in concentrations from 0.02; 0.04; 0.06; 0.08 to 0.10 mg / l in tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings. The experimental design was applied in 120 tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings during a period of 10 days, exposed to different concentrations of cadmium chloride applied to the water ponds with control of their feeding and the physicochemical parameters. The histological study obtained in the gill, spleen, liver and muscle tissues showed the presence of granulomas, lamellar fusion, tissue hyperplasia and necrotic tissue as a consequence of bioaccumulation due to exposure to cadmium chloride concentrations greater than 0, 06 mg /l. Conclusion, there is a directly proportional relationship between the time of exposure to different concentrations of cadmium chloride and the histological responses in the tissues of the tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings.

Key words: Tilapia *Oreochromis niloticus*, cadmium chloride, poisoning.

I. Introducción

Los metales pesados constituyen los mayores contaminantes químicos tanto en países desarrollados como en subdesarrollados. Estos elementos no desaparecen del ambiente, pero sí pueden ser transferidos a otros lugares. Algunos metales pesados pueden permanecer en solución, una proporción de ellos se acumulan en los sedimentos y otros en las aguas de los ríos o estuarios (Lloyd, 1992).

Los metales pesados disueltos en las aguas, producen generalmente sofocamiento en los peces, debido a los precipitados o coagulados de mucoproteínas sobre el epitelio branquial, esto constituye un bloqueo del intercambio de gases, la excreción de productos de desecho y la osmorregulación (Jones, 1973). El cloruro de cadmio es un contaminante del medio ambiente que se encuentra con frecuencia en alimentos, agua y aire, representando uno de los mayores poluentes acuáticos en muchas partes del mundo. Además, se acumula en altas concentraciones en los peces, siendo inmunotóxico para una variedad de especies mamíferas, y se sospecha que podría tener efectos carcinogénicos (Zelikoff et al., 1995).

Para dar cumplimiento a los objetivos establecidos se diseñó un conjunto de estrategias para llevar a cabo los ensayos, compuesta en por actividades que fueron distribuidas en siete etapas: primera etapa de adquisición de los peces y aclimatación, segunda etapa biométrica, la tercera etapa preparación de las concentraciones de cloruro de cadmio, cuarta etapa preparación de las soluciones de cloruro de cadmio, quinta etapa bioensayo, sexta etapa sacrificio de los ejemplares representativos y séptima etapa la fijación de las muestras y análisis histopatológico de las muestras con los métodos y técnicas de análisis en laboratorio.

La presente tesis comprende de cinco capítulos, en el capítulo I se presenta el planteamiento del problema, se enuncia la descripción del problema, los antecedentes, los objetivos, la justificación e hipótesis, en el capítulo II se hace referencia a la base teórica, en

el capítulo III se describe a los resultados con análisis e interpretación de datos, la contrastación de la hipótesis, en el capítulo IV se presentan los resultados del estudio de laboratorio, en el capítulo V se muestran la discusión de los resultados, y termina con las conclusiones, recomendaciones, referencias y anexos.

Presento el trabajo de investigación que me ha permitido demostrar mediante ensayos de toxicidad aguda con valores de cloruro de cadmio de 0,02 mg/l, 0,04 mg/l, 0,06 mg/l, 0,08 mg/l y 0,10 mg/l diluido en agua declorada, suministrada a tilapias *Oreocromis niloticus*, a fin de valorar las alteraciones histopatológicas producidas en ensayos de toxicidad.

1.1. Descripción y formulación del problema

La importancia que ha generado el cultivo de tilapia en el Perú motiva a que crezca una preocupación por el control de los embalses y del medio ambiente, ya que muchos de estos cultivos se encuentran situados en las cercanías de zonas urbanas, agrícolas e industriales que generan residuales portadores de sustancias tóxicas a la salud del hombre y a las especies cultivadas. La tilapia por su fácil cultivo y rápida reproducción además de su alta calidad de su carne, es un pez omnívoro que presenta una etapa de su vida cuya alimentación es bentónica y detritívora, lo que la vuelve susceptible de contaminarse en caso de encontrarse el sedimento contaminado.

Según el Ministerio de Producción (PRODUCE, 2014) en la actualidad, en el país hay 668 centros acuícolas que cultivan tilapia, y entre ellos se tiene que 476 son de subsistencia o acuicultura de recursos limitados; 188 son de menor escala y cuatro de mayor escala, los cuales representan un total de 394.5 hectáreas destinadas a la producción de esta especie, siendo las principales zonas de producción los departamentos de Piura, San Martín, Tumbes y Lima. En Lima las reservas de agua para consumo y uso agrícola provienen de las aguas del río Rímac, siendo Lima una de las zonas de mayor producción de tilapia, según el

Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI, 2015) la concentración de cloruro de cadmio en el Río Rímac es de un promedio de 0,064 mg/l con un aumento del 25,5 % con respecto al año pasado, si bien la concentración está dentro de lo permitido y no es perjudicial, es necesario saber si estas concentraciones influyen en la mortalidad de los alevines de tilapia durante su aclimatación manifestando características patológicas consecuentes por la exposición al metal.

Estudio realizado por Rengel et. al (1997) manifiestan que tilapias de 17,77 cm expuestas a concentraciones de 0,05 y 0,10 mg/l provocan alteraciones celulares notables a nivel gonadal, además de establecer que el cloruro de cadmio interfiere con el metabolismo del calcio.

Según Stellman, (2001). El cloruro de cadmio, se emplea como fungicida, componente de los baños galvanoplásticos, colorante en pirotecnia, aditivo en las soluciones de estaño y mordente en la tinción e impresión de textiles. También es utilizado en la producción de determinadas películas fotográficas, para la fabricación de espejos especiales y para el recubrimiento de tubos electrónicos de vacío.

Las condiciones del medio ambiente en los últimos años, se ve invadido por el uso de los aparatos tecnológicos, el desarrollo industrial no controlado, la presencia de la minería ilegal, el incumplimiento de las normas de eliminación de residuos sólidos y radioactivos, estas malas prácticas están generando que los recursos hídricos se contaminen con metales pesados en concentraciones cada vez más elevadas. Así mismo hay que considerar que el cultivo de la tilapia es una alternativa de consumo humano por su alto contenido proteico con bajo costo de producción, por tanto, merece ser estudiado y valorado a fin de determinar los efectos que ocasiona la toxicidad de cloruro de cadmio en los tejidos de los alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* cultivados en nuestra zona, sustentado en los estudios previos presentados.

1.2. Antecedentes

Las pruebas de toxicidad aguda para peces han sido desarrolladas por la Administración de Alimentos y Drogas (USFDA) y la Agencia de Protección del Medio Ambiente (USEPA) de los Estados Unidos desde 1863 según Hunn (1989). Estas metodologías sobre pruebas de toxicidad fueron publicadas y estandarizadas en 1960 American Public Health Association (citado en Hunn, 1989), mejoradas en 1975 y actualizadas en 1980 (American Society for Testing and Materials). Estas pruebas han sido utilizadas para establecer la actividad de los químicos en los ciclos biológicos, evaluar la toxicidad de metales y al reducir el riesgo ecológico). Entre 1974 y 1975 se firmó entre los países de la comunidad europea el convenio de París, para reglamentar los mecanismos para prevenir y proteger el Océano Atlántico y el Mar del Norte. En el marco de este convenio se ubicó al metal pesado cadmio, entre otras sustancias, en la llamada “Lista Negra”, y por su alta toxicidad no se lo puede introducir en ningún ecosistema, y se debe ejecutar planes de contingencia en caso de detección de cadmio en el ambiente. Por otro lado, el metal pesado cromo ha sido catalogado en la “Lista Gris”, conjuntamente con otros metales, y sólo puede ser descargado al medio acuático con extremas medidas de seguridad.

El cadmio se encuentra usualmente acompañando al zinc en aguas superficiales, pero en muy bajas concentraciones. Este metal se vierte en el ecosistema marino junto con el zinc desde fábricas de plásticos, pinturas, tubos fluorescentes, tubos de televisión, baterías, industria de autos, aviones, y puede presentarse naturalmente en el petróleo crudo, gasolina, fertilizantes inorgánicos tales como fertilizantes fosfatados y lodos de aguas negras usados en tierras agrícolas. Los efluentes de minas de zinc y los vertimientos municipales también son fuentes importantes de contaminación.

Los metales pesados constituyen los mayores contaminantes químicos tanto en países desarrollados como en subdesarrollados. Según Lloyd (1992) estos elementos no

desaparecen del ambiente, sino que solamente pueden ser transferidos a otros lugares. Algunos metales pesados pueden permanecer en solución, una proporción de ellos se acumulan en los sedimentos y otros en las aguas de los ríos, estuarios, o mares. Los efectos biológicos de los metales poluentes descritos en los organismos expuestos incluyen alteraciones en parámetros hemáticos, metabólicos, inmunitarios, desarrollo embrionario, e incluso en un incremento de la incidencia de neoplasias según Zelikoff, Bowser, Squibb y Frenkel (1995). Los metales pesados disueltos en las aguas, producen generalmente sofocamiento en los peces, debido a los precipitados o coagulados de mucoproteínas sobre el epitelio branquial, esto constituye un bloqueo del intercambio de gases, la excreción de productos de desecho y la osmorregulación según Jones (1973). El cadmio es un contaminante del medio ambiente que se encuentra con frecuencia en alimentos, agua y aire, representando uno de los mayores poluentes acuáticos en muchas partes del mundo. Según Zelikoff et al. (1995) se acumula en altas concentraciones en los peces, siendo inmunotóxico para una variedad de especies mamíferas, y se sospecha que podría tener efectos carcinogénicos

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar los daños histopatológicos causados por la exposición de cloruro de cadmio en las concentraciones desde 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 a 0,10 mg/l en alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* expuestos durante el año 2018.

1.3.2. Objetivos específicos

Determinar la influencia del cloruro de cadmio en la alteración histopatológica en los riñones, hepatopáncreas, bazo, músculos y branquias de los alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* expuestos durante el año 2018.

1.4. Justificación

1.4.1. Científica

Se justifica la preocupación del cuidado y preservación del medio ambiente acuático y el análisis de los diferentes problemas que genera la contaminación, siendo más específicos la repercusión de la contaminación por metales pesados como el cloruro de cadmio en los peces.

Es conocido que los peces presentan un marcado carácter bioacumulador de metales, los cuales se depositan fundamentalmente en las vísceras y músculo en dependencia de la especie, edad, sexo, talla; así como de los hábitos alimentarios y de vida.

1.4.2. Medio ambiente

La contaminación ambiental con cloruro de cadmio en los ecosistemas naturales a menudo se produce con concentraciones muy por debajo de la concentración letal, y muchos test de toxicidad ignoran la llamada “muerte ecológica”, aunque los niveles bajos de exposición al tóxico no son suficiente para matar al organismo, según Bello (2010) si los inhabilita para funcionar en un contexto ecológico, modificando su comportamiento normal.

La identificación y medición de los efectos ambientales por la presencia de una sustancia química es un trabajo multidisciplinario, en los análisis químicos deben combinarse con los estudios histopatológicos por considerarse una respuesta biológica al proceso de contaminación. Bello (2010) argumenta además que los metales pesados son serios contaminantes del ecosistema acuático, muchos de ellos son compuestos no biodegradables y son absorbidos y acumulados por los peces, causando problemas latentes de salud en los consumidores finales, como el hombre.

1.4.3. Socio económico

Según Moscoso (2001) y Castillo (2001), en el Perú en 1962 se introduce la Tilapia rendalli a la región de San Martín en estanques de la cuenca amazónica procedente del Brasil

por la Dirección General de Caza y Pesca del Ministerio de Fomento y Agricultura al lago Sauce como forraje para el “paiche o pirarucu” (*Arapaima gigas*), no obteniéndose un cultivo exitoso. En 1979 recién ingresan otras variedades de tilapia: *O. niloticus*, *O. hornorum* y *O. mossambicus* por instituciones como el Instituto del Mar del Perú (IMARPE) y la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM), con fines de investigación y cultivo en las zonas de selva alta produciéndose una rápida adaptación a la zona; es a partir de esta fecha en que se inicia un serio desarrollo con la tilapia. Entre otros resultados, estos trabajos de investigación y de adaptación de tecnología concluyeron en el establecimiento de numerosas unidades de cultivo comercial de tilapia en varios lugares del país. La mayor parte de ellos, sin embargo, se encontraban en el departamento de San Martín, por las condiciones que presenta esta zona del país según Basurco (1998).

Hoy en día se estima que esta región produce más de 1 100 Tn anuales y cuenta con más de 350 granjas operativas, con producciones muy rudimentarias y bajos rendimientos (1 500 a 2 500 kg/Ha/año), debido a que maneja con población normal o sexada, no se aplica fertilización, se utiliza alimentos artesanales en polvo y se trabaja con una sola etapa de producción según Moscoso (2001). Las larvas de tilapia *Oreochromis niloticus* se pueden producir en tanques cuadrados, rectangulares o circulares. Los tanques pueden fabricarse de madera, concreto, ladrillos, fibra de vidrio o de plástico, y por lo común poseen entradas de agua y drenaje independientes. Estos tanques, aunque pueden ser costosos, son comunes en donde el espacio es limitado o en donde los estanques no son prácticos debido a una topografía poco favorable. Los tanques con una superficie menor de 50 m² y con una profundidad de 1 metro son manejables. Sin embargo, algunos productores comerciales prefieren tanques con una superficie de 100 m² o más grandes. La producción de larvas puede variar mensualmente entre 500 a 1000/m² de tanque, pero por lo general, los laboratorios de producción comercial producen por encima de 7 000 larvas/m²/mes,

dependiendo de la frecuencia de la recolecta de larvas y del manejo de los peces reproductores.

1.4.4. Biológico

El contenido corporal de cadmio se incrementa con el tiempo de exposición y concentración de cloruro de cadmio y en relación a la situación geográfica

En condiciones “normales” de distribución, el cloruro de cadmio absorbido se excreta principalmente por la orina y en menor cantidad con la bilis, aunque pequeñas porciones puedan eliminarse por la piel y aún en la secreción gastrointestinal, pero el cloruro de cadmio (Cd) que sale con las heces en su mayor parte es el que no es absorbido por el organismo.

Por la vía renal e hígado la acumulación de Cd depende de la intensidad, del tiempo de exposición y del estado óptimo de la función de excreción renal.

1.4.5. Económica

La tilapia, dentro de los peces acuícolas ha ocupado un lugar destacado, por su fácil y rápida reproducción además de la alta calidad de su carne y agradable sabor.

El cultivo de tilapia ha desarrollado un campo laboral de inversión tipo Pymes, para lo cual es necesario implementar un Programa especial de apoyo con mecanismos ad hoc utilizando especies de bajo nivel en la cadena productiva y fundamentalmente en sistema de “policultivo” (varias especies que ocupen diferentes hábitats en el ecosistema estanque), convirtiéndose así la piscicultura como una actividad de alternativa o diversificación de agro a nivel familiar, así como su aceptación por el consumidor según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2009)

1.4.6. Ambiental

Este trabajo nos permitirá establecer parámetros de calidad de agua para el cultivo de alevines de tilapia, además de demostrar si las concentraciones de cloruro de cadmio en esta etapa influyen en su desarrollo en las siguientes etapas, los trabajos que se han realizado han

demostrado que etapas juveniles expuestas a mayores concentraciones de cloruro de cadmio tienden a influenciar en el desarrollo de la tilapia, como se había descrito anteriormente la tilapia tiene un carácter bioacumulador, esta concentración le permitirá desarrollarse pero es en el momento de la reproducción donde se ven los daños producidos por el metal ocasionando malformaciones óseas en los alevines y generando esterilidad en machos según Corey y Galbao (1987)

Es importante porque no solo el cultivo de tilapia se destina al consumo de carne sino a otras áreas como en la acuaponía, es una especie muy rentable por sus características biológicas y por el gran aporte de nutrientes a la planta. Siendo el recurso hídrico en la ciudad de Lima procedente en su mayoría del río Rímac, aportaría mucho conocer si las concentraciones de cloruro de cadmio afectarían su cultivo.

1.4.7. Normativa

Las normas en relación al cuidado del medio ambiente, en el Perú, está enfocada en estudios de las concentraciones máximas de elementos, compuestos químicos o agentes patógenos biológicos, pero no logran evaluar el efecto que tendrán sobre los seres vivos que habitan en los ecosistemas receptores. DECRETO SUPREMO N° 004-2017-MINAM

A comparación de Brasil, por ejemplo, realizan ensayos toxicológicos previos a la descarga de efluentes en cuerpos de agua receptores, que cumplen un papel relevante en el análisis químico como una herramienta para cumplir la normatividad ambiental de su país.

1.4.8. Salud Pública

De los resultados obtenidos después del estudio se dispondrá a las entidades interesadas para que puedan evaluar un sistema de regulación en la producción de los alevines para el consumo humano, que pueda ser consumida por la población previo control de la contaminación con el metal cloruro de cadmio en los alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*.

Las concentraciones altas de los metales como el cloruro de cadmio producen reacciones químicas en las proteínas estructurales de las células, las enzimas y los sistemas de la membrana celular; atacando la piel y otros sistemas como: pulmonar, renal, nervioso, esquelético, entre otros. Según Stellman (2001).

1.5. Hipótesis

Hipótesis General

Las concentraciones de cloruro de cadmio de 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 y 0,10 mg/l ocasionan daños histopatológicos en alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*.

Hipótesis específicas

La exposición a cloruro de cadmio a concentraciones de 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 y 0,10 mg/l ocasionan daños histopatológica en los riñones, hepatopáncreas, bazo, musculo y agallas de los alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*.

II. Marco Teórico

2.1. Tilapias

Originaria de África, pertenece a la familia de los cíclidos chichlidae y está representada por cerca de 100 especies pertenecientes a seis géneros diferentes. Las especies de Tilapia más conocidas e introducidas en el país son las siguientes según Garzón (2012):

Oreochromis mosambicus o mojarra negra

Oreochromis niloticus o Tilapia plateada

Oreochromis urolepis hornorum

Oreochromis aureus o Tilapia azul

Tilapia rendalli o Tilapia herbívora

2.1.1. Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Es un pez de origen tropical, su cultivo se industrializa es una actividad que promueve su consumo con un gran potencial económico Según FAO (2009)

Clasificación taxonómica

Nombre común : Tilapia Negra (tilapia del Nilo)

Familia : Chichlidae (Cíclidos)

Subfamilia : Pseudocrenilabrinae

Género : *Oreochromis*

Especie : *Oreochromis niloticus*.

Rasgos biológicos

Según FAO (2009)

- Cuerpo comprimido; la profundidad del pedúnculo caudal es igual a su longitud.
- Escamas cicloideas.
- Protuberancia ausente en la superficie dorsal del hocico.
- La longitud de la quijada superior no muestra dimorfismo sexual.

- El primer arco branquial tiene entre 27 y 33 filamentos branquiales.
- La línea lateral se interrumpe.
- Espinas rígidas y blandas continuas en aleta dorsal. Aleta dorsal con 16 ó 17 espinas y entre 11 y 15 rayos.
- La aleta anal tiene 3 espinas y 10 u 11 rayos.
- Aleta caudal trunca.
- Las aletas pectoral, dorsal y caudal adquieren una coloración rojiza en temporada de desove; aleta dorsal con numerosas líneas negras.

Hábitat y biología

La tilapia del Nilo es una especie tropical que prefiere vivir en aguas someras. Las temperaturas letales son: inferior 11-12 °C y superior 42 °C, en tanto que las temperaturas ideales varían entre 31 y 36 °C. Son peces que viven en aguas dulces como en agua salada y pueden llegar a acostumbrarse a vivir con poca cantidad de oxígeno, sobreviven a temperaturas entre 28 – 32°C. Algunos signos de enfermedad atribuidos a la temperatura según lo mencionado por los siguientes autores son:

Alamilla (2001) menciona que el rango óptimo de temperatura para su desarrollo es de 20 a 35 °C” pudiendo soportar temperaturas menores.

Según Popma (1996), menciona que la intolerancia de tilapia a temperaturas bajas es una restricción seria de cultivo comercial en regiones templadas. La temperatura inferior 11°C es letal para la mayoría de especies. Además Lim (1997) menciona que la tilapia generalmente deja de alimentarse cuando la temperatura del agua por debajo de 17 °C.

Los cambios de temperatura afectan directamente la tasa metabólica, mientras mayor sea la temperatura, mayor tasa metabólica y por ende mayor consumo de oxígeno según Solla (1999).

Es un alimentador omnívoro que se alimenta de fitoplancton, perifiton, plantas acuáticas, pequeños invertebrados, fauna béntica, desechos y capas bacterianas asociadas al detritus. La tilapia del Nilo puede filtrar alimentos tales como partículas suspendidas, incluyendo el fitoplancton y bacterias que atrapa en las mucosas de la cavidad bucal, si bien la mayor fuente de nutrición la obtiene pastando en la superficie sobre las capas de perifiton. En estanques, la madurez sexual la alcanza a la edad de 5 ó 6 meses. El desove se inicia cuando la temperatura alcanza 24 °C. El proceso de reproducción empieza cuando el macho establece su territorio, excava un nido a manera de cráter y vigila su territorio. La tilapia del Nilo puede vivir más de 10 años y alcanzar un peso de 5 kg según FAO (2009)

Los factores que pueden propiciar cambios en la morfología y fisiología de la tilapia pueden ser de varios tipos:

- En el caso de la alimentación artificial (balanceado) a ofrecer en cada uno de acuerdo a la biomasa bajo cultivo, este debe ser bien balanceada, hay casos que el alimento para la tilapia es específicamente preparado para obtener un rápido crecimiento, engorde, pero sin descuidar la calidad del alimento según FAO (2009)
- El agua, la misma que debe ser de buena calidad, también puede repercutir en los productos finales de la tilapia, esta debe estar libre de cualquier contaminante que pueda afectar con la calidad de los peces que se están criando en los estanques, para estos casos se recomienda el uso de agua de arroyos, pero muy específicamente se prefiere el agua de pozo según FAO (2009)

Fuente de agua de los estanques de tilapia

Asegurar el suministro en cantidad suficiente para el llenado de los estanques, mantener una reposición de las pérdidas que ocasiona la evaporación y filtración, y mantener toda acción de seguridad en el recambio según ALICORP (2000)

El agua de pozo es la más idónea por su calidad física, química, microbiológica y ausencia de predadores. Debe contener buen volumen y proveer agua durante todo el año, se recomienda el agua de arroyos, quebradas, manantiales, o pozos profundos, es importante que el agua no esté contaminada con pesticidas o con otros compuestos químicos.

La fuente de agua más recomendada para el cultivo de peces (tilapia) es el pozo profundo, esta agua está generalmente libre de contaminantes, parásitos, enfermedades, otros peces y organismos indeseables en nuestros cultivos según FONDEPES (2004).

Características del agua de abastecimiento:

Según la revista AquaTIC (1998) debe de asegurarse el suministro en cantidad suficiente para el llenado de los estanques, reposición de las pérdidas que ocasiona la evaporación y filtración, y seguridad de un recambio adecuado por lo tanto se debe tener en cuenta:

Temperatura

- Máxima: 36°C. • Mínima: 18°C Óptima: entre 34 y 36°C

Oxígeno disuelto

- Mínimo: Menor a 2 ppm a la salida del estanque
- Óptimo: Mayor al 75 % de saturación a la entrada del mismo.

Otras características:

- pH: Rango aceptable 6,5 a 8,5
- Alcalinidad total 100 a 200 mg /l
- Dureza total 20 a 350 mg/l
- Nitritos menor 0,1 mg/l

2.1.2. Anatomía e histología del hígado, bazo, riñón, branquias y músculos de *Oreochromis niloticus*

El hígado en los peces realiza funciones tanto hepáticas como pancreáticas; es el órgano metabolizador por excelencia de todas las sustancias que le llegan por vía sanguínea, por lo

cual, este órgano sirve como referente histológico para el análisis del daño tisular causado por sustancias contaminantes del medio ambiente como pesticidas, metales pesados y otros según Amaral et al. (2002).

Es la principal fábrica del organismo interviniendo en distintos procesos metabólicos. Es blando, de color pardo rojizo y muy voluminoso, presentando en ocasiones de color rosa – crema, situación que no siempre indica un cuadro patológico. El hígado suele sufrir de infiltración grasa debido a ingestión de alimentos en mal estado o en casos de sobrealimentación.

La vesícula biliar está bien desarrollada. El colédoco vierte en la primera porción del intestino delgado la bilis, que emulsiona las grasas para que sean fácilmente atacadas por las lipasas pancreáticas. Por su parte el páncreas segrega amilasas, tripsina y quimiotripsina. El conducto pancreático vierte casi siempre en el colédoco.

Las branquias son órganos que se encuentran en cámaras ubicadas simétricamente a ambos lados del cuerpo, detrás de la cabeza. La branquia es el principal órgano blanco por contaminantes según Biagini, De Oliveira y Fontanetti (2009) su tejido epitelial es un excelente parámetro para evaluar los efectos de variables ambientales, sustancias tóxicas y calidad del agua.

La descripción histológica como la ultraestructural de la branquia muestra la complejidad de sus tejidos y entre ellos, el epitelial cuya estructura permite el intercambio óptimo de gases y de otras sustancias. La formación de los pliegues en la mucosa y la morfología de micropliegues, con su capa de glicocáliz, son consideradas estructuras importantes en la retención de moco y son extremadamente sensible al estrés, grado de madurez celular y cambios ambientales según Mazon, Cergueria y Fernandez (2002)

El opérculo es la cubierta ósea que tapa las branquias o "agallas". Por medio de las branquias respiran los peces, las que están formadas por un fino epitelio muy sensible a las

características del agua (materias en suspensión, pH), falta de vitaminas y presencia de agentes biológicos (parásitos, bacterias, hongos) según Mancini (2002)

El intercambio entre el O₂ y el CO₂ de la sangre se produce a nivel de las laminillas branquiales. Durante el proceso respiratorio el pez mantiene los opérculos cerrados, abre la boca, el agua entra por succión y se llena la cavidad bucal. Luego cierra la boca y el agua pasa por una amplia abertura branquial saliendo al exterior a través de los opérculos según Mancini (2002)

La circulación de la sangre es en contracorriente con respecto a la del agua, logrando así que el intercambio de gases sea de hasta aproximadamente el 80 %; de lo contrario solo sería del 50 %. La frecuencia respiratoria dependerá del estrés, contenido de oxígeno disuelto del agua, nivel de metabolismo, temperatura, etc.

Las branquias además de participar en la respiración también participan en la regulación de sales y agua entre el pez y el medio acuático.

El CO₂ es un gas altamente hidrosoluble de modo que se libera fácilmente por las branquias. El intercambio gaseoso tiene lugar en las laminillas secundarias. En comparación con los animales de respiración aérea, el gasto energético es muy alto, especialmente cuando el O₂ es bajo, cuando el agua se presenta contaminada y en momentos de temperaturas elevadas. En las laminillas secundarias se encuentran linfocitos, fagocitos, eosinófilos y en los peces eurihalinos hay células pálidas de secreción salina. En los peces planctónicos existen las branquiespinas que sirven para retener el plancton. Hay una relación estrecha entre tamaño y número de branquiespinas y dieta del pez.

El riñón, es una formación pardo-negrucza que se extiende en la parte superior del abdomen desde la cabeza hasta el ano, hacia ventral de la columna vertebral y dorsal de la vejiga gaseosa. En algunos peces, como en la trucha, al principio es un órgano par y luego, en el adulto, se transforma en impar. Según Steffens (1987) es el principal filtro del

organismo. Filtra la sangre a través de los glomérulos y la conduce por tubos a conductos pares, los uréteres, que la llevan a la vejiga que se encuentra por encima del ano. El conducto de la vejiga vierte a través de la abertura urogenital, que sirve también para la expulsión de las ovas.

La excreción se basa fundamentalmente en:

- Filtración: Dada principalmente por diferencias de presión y por diferencias de P.M.
- Reabsorción: Recuperación de sustancias no desechables.
- Secreción: Expulsión de sustancias tóxicas que se encuentran en concentraciones excesivas.

Los peces según Mancini (2002) excretan casi todo el nitrógeno en forma de amoníaco (90 %). Solo una pequeña parte (10 %) sale en forma de urea. El principal órgano excretor del amoníaco son las branquias. El agua dulce tiene una concentración de sales menor que la del pez, por lo que tiende a penetrar en el organismo (a través de las branquias y faringe principalmente).

El riñón debe eliminar el agua en exceso produciendo orina diluida, mientras que en las branquias se recuperan sales en forma activa (las branquias también juegan un rol importante en la osmorregulación).

En la Figura 1, se sintetiza el proceso toxicológico del Cadmio, desde la ingestión hasta la eliminación por las diferentes vías.

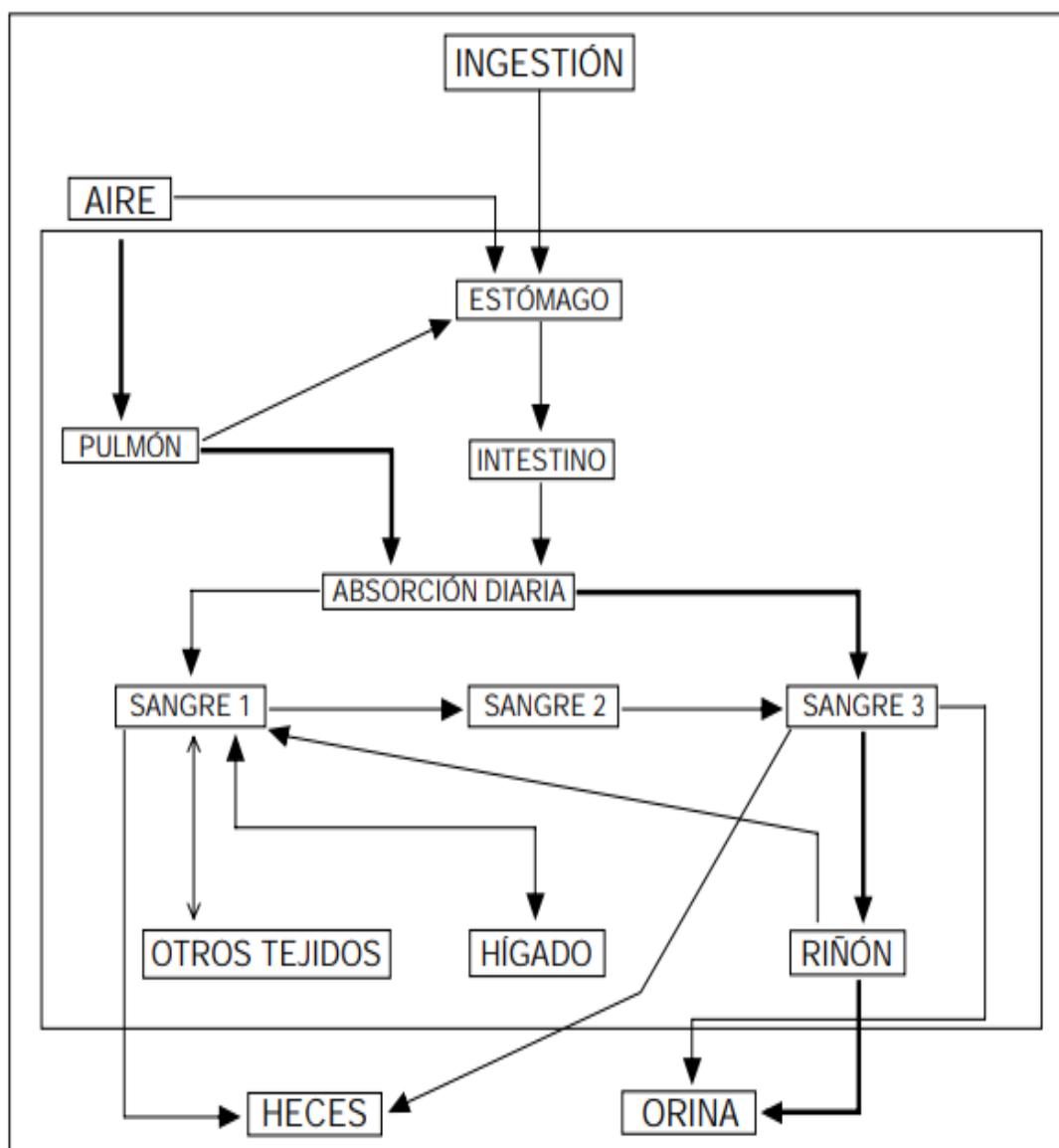


Figura 1. Toxicología del cadmio. Esquema toxicocinético.

Fuente: Modelo toxico cinético del cadmio, elaborado a partir de investigaciones en animales y por observaciones clínicas en expuestos. Ramírez, A. (2002).

2.2. Metal pesado: Cloruro de cadmio (Cd)

Es un metal pesado, de consistencia blanda, color blanco azulado, poco abundante, muy tóxico. Usualmente se encuentra en rocas de zinc y se aprovecha en las pilas.

En la naturaleza no se encuentra en estado puro, sino en una afinidad química asociado con otros metales como el plomo, el zinc y el cobre. Es altamente contaminante ambiental e

industrial, considerado uno de los mayores tóxicos, ya que reúne las cuatro características básicas más peligrosas de un tóxico:

- Bioacumulación
- Persistencia en el ambiente
- Efectos desfavorables para el hombre y el ambiente
- Es fácilmente transportable mediante los cursos de agua y el viento

2.2.1. Concentraciones de cloruro de cadmio

Las concentraciones de cadmio en las aguas marinas no contaminadas son de 0,04/0,3 mg por litro, en las aguas naturales son inferiores a 1 mg/l, en el suelo son menos de 1 mg/l, mientras que alrededor de zonas industriales pueden alcanzar niveles más elevados, 60-70 mg/l, siendo sus fuentes de emisión principales los vertidos industriales, las centrales a carbón y los incineradores Friberg (1974)

2.2.2. Efectos orgánicos del Cloruro de cadmio

La sangre transportará el Cadmio al resto del cuerpo donde puede incrementar los efectos por potenciación del Cadmio que está ya presente por comer comida rico en Cadmio. Otra alta exposición puede ocurrir con gente que vive cerca de los vertederos de residuos peligrosos o fábricas que liberan Cadmio en el aire y gente que trabaja en las industrias de refineras del metal. Cuando la gente respira el Cadmio este puede dañar severamente los pulmones. Esto puede incluso causar la muerte. El Cadmio primero es transportado hacia el hígado por la sangre. Allí es unido a proteínas para formar complejos que son transportados hacia los riñones. El Cadmio se acumula en los riñones, donde causa un daño en el mecanismo de filtración. Esto causa la excreción de proteínas esenciales y azúcares del cuerpo y el consecuente daño de los riñones. Lleva bastante tiempo antes de que el Cadmio que ha sido acumulado en los riñones sea excretado del cuerpo humano según Koyama, Kitoh y Tohyama, (2002).

Otros efectos sobre la salud que pueden ser causados por el Cadmio son:

- Diarreas, dolor de estómago y vómitos severos
- Fractura de huesos
- Fallos en la reproducción y posibilidad incluso de infertilidad
- Daño al sistema nervioso central
- Daño al sistema inmune
- Desordenes psicológicos

Posible daño en el ADN o desarrollo de cáncer Koyama et al. (2002).

- Tiene efectos tóxicos en los organismos vivos, aun en concentraciones mínimas, ocasiona una serie de fenómenos desde su ingreso al organismo hasta su eliminación, siendo los siguientes procesos.
- Se absorbe por tres vías diferentes; orales, respiratorias o dérmicas. Sin embargo, la exposición dérmica es relativamente insignificante, es la absorción tras la vía inhalatoria y oral las de mayor interés.
- El Cloruro de cadmio y sus sales presentan baja volatilidad y existen en el aire como materia finamente particulada. Cuando son inhaladas, una parte de estas partículas se deposita en el tracto respiratorio y los pulmones, mientras que el resto son exhaladas. Una vez es absorbido por los pulmones o por el tracto intestinal el cloruro de cadmio es transportado por la sangre a otras partes del cuerpo, concentrándose principalmente en el hígado y el riñón. La acumulación de Cd en riñón e hígado depende de la intensidad, del tiempo de exposición y del estado óptimo de la función de excreción renal.
- La metalotioneína (MT) es el medio de transporte del cloruro de cadmio en el plasma sanguíneo. Estas Son un grupo de proteínas que unen metales, ricas en residuos de cisteína, cuya síntesis ocurre principalmente en hígado y riñón. El complejo Cloruro de

cadmio - metalotioneína se considera menos tóxico que el Cloruro de cadmio sin enlazar, por tanto, esta proteína tiene efecto detoxificante.

- El cloruro de cadmio se excreta de manera escasa y muy lenta, esto explica la larga vida biológica de este elemento.

Tras la absorción la principal vía de eliminación de cloruro de cadmio es a través de la orina, por lo que se considera que el cloruro de cadmio urinario refleja la carga corporal de cloruro de cadmio.

Ramírez (2002), esquematizó en la Figura 2 un diagrama del proceso de sintetización de la absorción, distribución y excreción del cadmio en el ser humano en condiciones “normales” de exposición ambiental, con valores de cadmio en relación a las vías de ingreso y egreso.

2.3. Resultados histopatológicos en las tilapias

Los resultados histopatológicos se modifican según el estadio de la enfermedad, a menudo no son diagnósticos y pueden parecerse a otras enfermedades crónicas.

Examen Histopatológico

Analiza muestras procedentes de individuos enfermos y tiene el objetivo específico de identificar alteraciones estructurales y anormalidades proteicas o genéticas para corroborar el diagnóstico o causa de enfermedad o muerte. Por tal motivo Di Fiore (2001) para mejorar el contraste se emplean colorantes, por tal motivo antes de ser coloreados primero se fija el tejido con el fin de disminuir la distorsión de las células y de la matriz extracelular, segundo son colocados en parafina y tercero son cortados en laminillas muy delgadas capaces de ser atravesados por la luz.

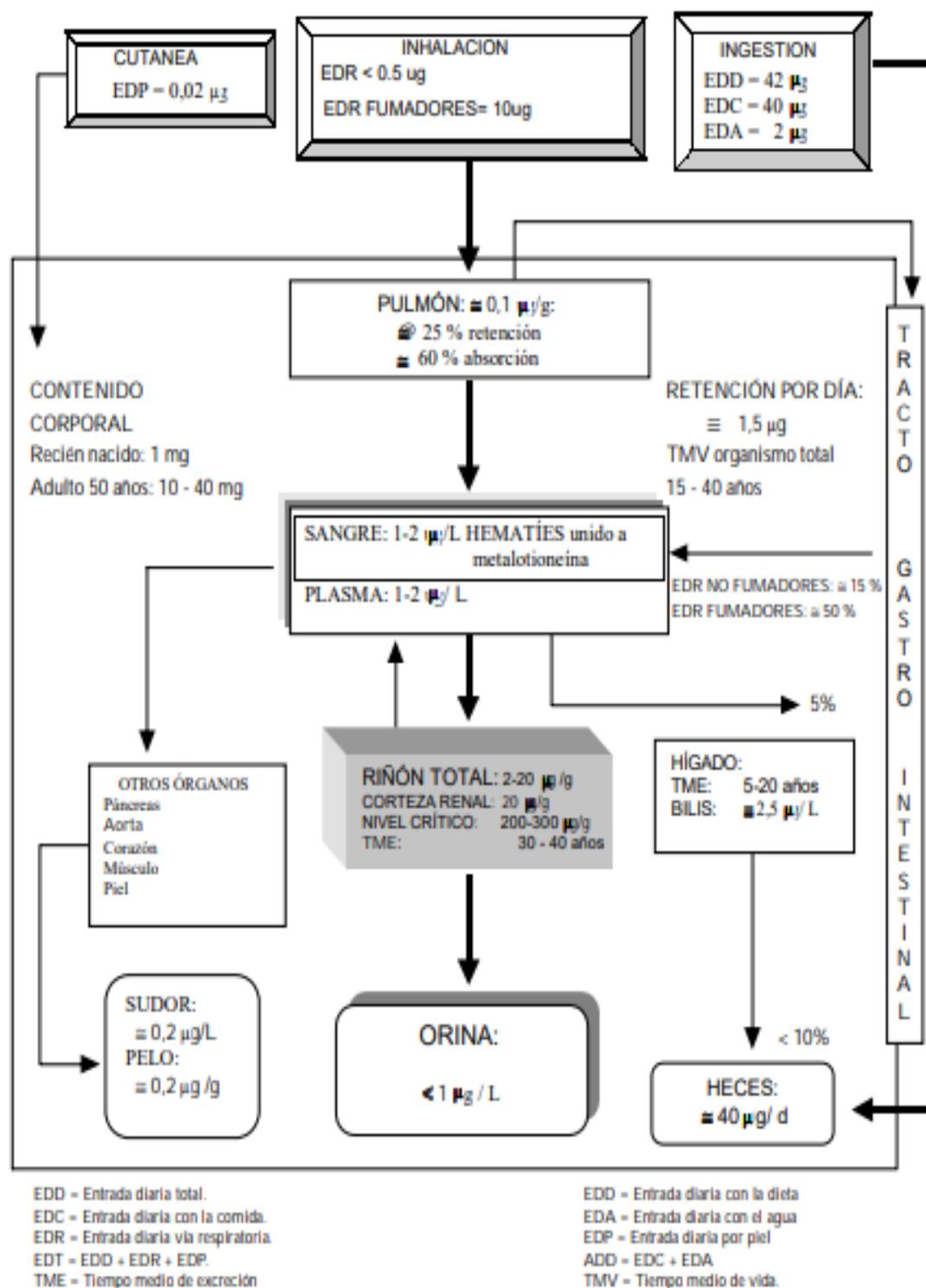


Figura 2. Toxicología del cadmio. Toxicocinética.

Fuente: Ramírez (2002)

Informe de patología.

Los informes de patología cumplen una función importante para determinar el diagnóstico y el estado del tejido (describen las características de los tejidos, especialmente si la lesión ha afectado tejidos adyacentes. contiene el diagnóstico que se determinó mediante el análisis de células y tejidos en un microscopio. El informe puede también contener información sobre el tamaño, la forma y la apariencia de una muestra tal como se ve a simple vista. Esta información se conoce como descripción macroscópica. El informe de patología puede incluir la siguiente información según el Instituto nacional del cáncer (2010)

- Información de la especie: Nombre, fecha de toma de muestra, fecha de lectura de la biopsia
- Descripción macroscópica: Color, peso y tamaño del tejido tal como se ve a simple vista
- Descripción microscópica: Cómo se ve la muestra en el microscopio y cómo se compara con las células normales

2.3.1. Bioensayos

Castillo (2001) Los bioensayos o ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de los agentes físicos y químicos en organismos bajo situaciones de experimento específico.

Los efectos contaminantes pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, reflejados en la reacción de los organismos, como muerte, alteración en el crecimiento, proliferación celular, alteraciones en la multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos.

Los bioensayos de toxicidad aguda permiten cuantificar las concentraciones letales de un tóxico a una especie determinada. El valor de la Concentración Letal Media (CL50), y

representa la causa de muerte al 50 % de la población experimental, en un tiempo determinado (generalmente 48 o 96 horas).

Los bioensayos pueden ser de dos tipos: estáticos, donde las pruebas se llevan a cabo sin la renovación continua de la solución; y continuos, donde la solución de prueba circula continuamente. Los bioensayos estáticos se realizan con o sin renovación de la solución de prueba.

Los bioensayos de toxicidad aguda de tipo estáticos sin renovación de solución, son ampliamente usados a nivel mundial y hasta existen protocolos estandarizados para varias especies, generalmente de Norteamérica, ya que se han obtenido resultados exitosos a lo largo del tiempo. No obstante, actualmente se recalca la importancia de realizarlas con especies que habitan los ecosistemas potencialmente a ser afectados.

2.3.2. Relación dosis – respuesta

Según Abimbola (2016) determina la relación dosis – respuesta como la correspondencia entre la cantidad de tóxico administrada y la magnitud del efecto en el número de especies expuestas, es lo que se conoce como la relación dosis-efecto o dosis-respuesta. Se espera que, a mayor dosis, mayor es el número de especies afectadas. En la Figura 3 se representa la curva de distribución de la relación dosis-respuesta de relación directa, es decir a menor dosis, menos respuesta y a mayor dosis, mayor respuesta.

La dosis – respuesta puede generar varios tipos de curva para cada tipo de efecto dependiendo del tipo de sustancia toxica y de los efectos a evaluar.

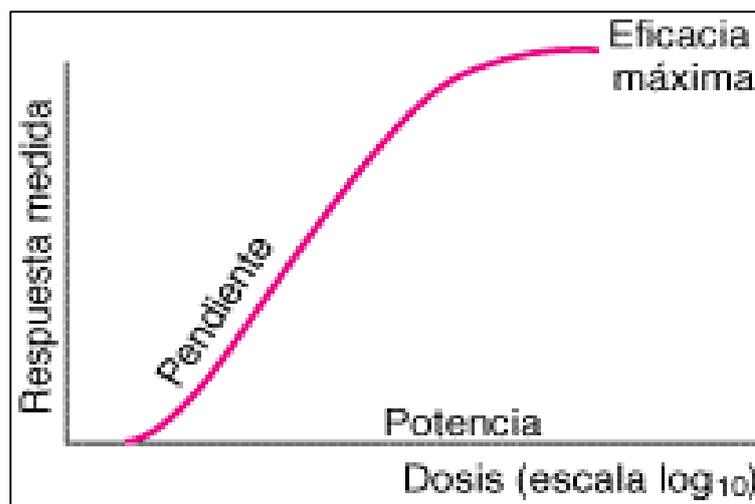


Figura 3. Curva de relación dosis – respuesta.

Fuente: Abimbola (2016)

2.4. Conceptos Básicos

Bentos

Comunidad formada por los organismos que habitan el fondo de los ecosistemas acuáticos. El bento se distingue del plancton y del necton, formados por organismos que habitan en la columna de agua. El adjetivo que se hace derivar del bentos es bentónico.

Bioacumulador

Son organismos vivos que acumulan en su cuerpo ciertos compuestos como metales u otros que nos permiten visualizar la dirección y velocidad de contaminación, que frente a pulsos de contaminación podemos observar la degradación, adsorción o absorción, nos permite saber el estado de salud del ecosistema, nos permite ver interacciones

Bioensayo

Proceso experimental mediante el cual se determinan las características y la fuerza de una sustancia potencialmente tóxica o de un desecho metabolito, a través del estudio de sus efectos sobre organismos cuidadosamente escogidos y bajo condiciones específicas de laboratorio.

Detritófora

Son organismos conocidos también como saprófagos comedores de detritus, son heterótrofos porque obtienen los nutrientes por consumo de detritus (materia orgánica en descomposición)

Ecosistema

El ecosistema es el conjunto de especies de un área determinada que interactúan entre ellas y con su ambiente abiótico; mediante procesos como la depredación, el parasitismo, la competencia y la simbiosis, y con su ambiente al desintegrarse y volver a ser parte del ciclo de energía y de nutrientes.

Inmunotóxico

Todo agente que perjudica al sistema inmune.

Metalotioneína

Las MTs tiene la capacidad de unirse a metales pesados tanto fisiológicos (zinc, cobre, selenio) como xenobióticos (como cloruro de cadmio, mercurio, plata y arsénico), a través de los grupos tiol (-SH) de sus residuos de cisteína, que representan casi el 30 % de sus restos de aminoácidos.

Mucoproteínas

Compuestos que presentan en su estructura mucopolisacáridos y se encuentran en su mayoría en el tejido conectivo.

Poluentes

Son aquellos compuestos en cualquier forma física que causa contaminación al medio ambiente de manera crítica.

Tejido blando

Tal y como lo define su nombre tejido blando es el que no es rígido. Así pues, es un tejido adaptable y adaptador sobre el cual recaen los trastornos simbióticos con otros campos que

el puramente estructural. Y es que cuando se habla de tejido blando, parece que es un sistema independiente del resto de la estructura donde los orígenes de disfunción son mayoritariamente locales

Toxicidad aguda

La toxicidad aguda tiene por objeto determinar los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia. Usualmente, el punto final del estudio es la muerte del animal y la toxicidad aguda se expresa por la dosis letal 50, que viene a representar más o menos la dosis de la sustancia que produce la muerte en el 50 % de los animales.

Toxicocinética

Es el tránsito del tóxico por el organismo. Lo que el organismo hace con el tóxico (kinos= movimiento), por contraposición a lo que el tóxico hace sobre el organismo (toxicodinámica).

III. Método

3.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación para el presente estudio que reúne las condiciones metodológicas de una investigación cualitativa, ya que permite percibir y experimentar los fenómenos, profundizado sus puntos de vista, interpretaciones y significados. En la Figura 4 se ha elaborado un esquema de trabajo que se adapta al problema de estudio tomando como referencia a Hernandez (2014).

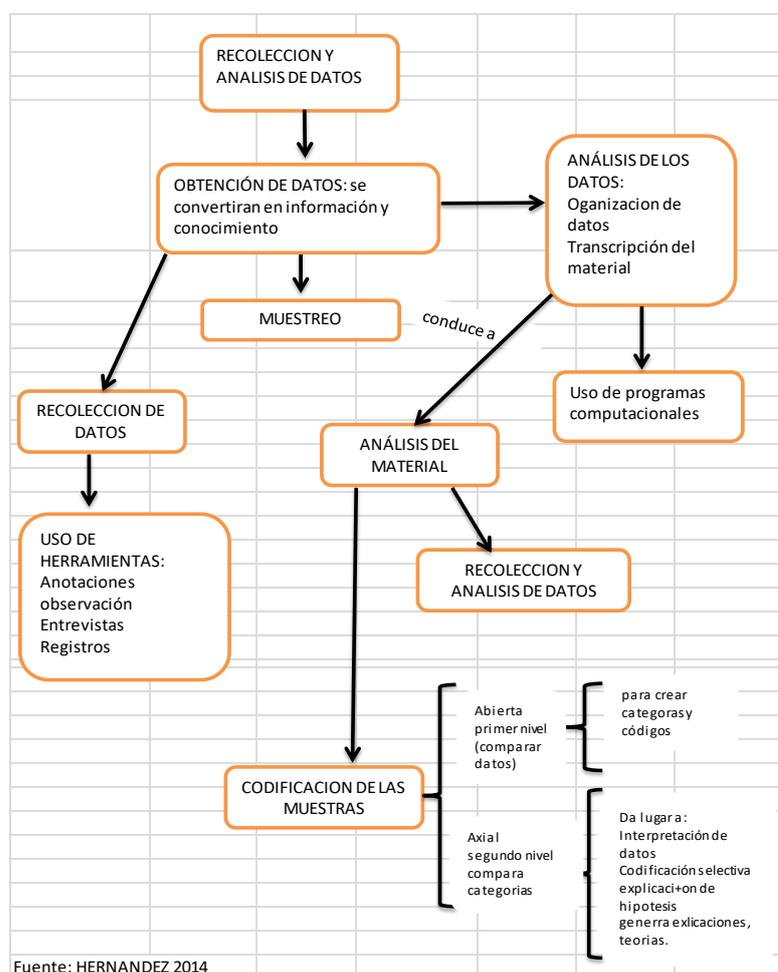


Figura 4. Etapas de la Investigación tipo cualitativa.

Fuente: Elaboración propia

Permite la manipulación de una (o más) variable, en condiciones controladas, a fin de describir de qué modo o por qué causa se produce el acontecimiento en particular. El proceso

de experimento es provocado por el investigador, para controlar el aumento o disminución de esas variables y su efecto.

3.2. Diseño de investigación

Para el presente estudio se aplicó el diseño experimental, porque se plantearon pruebas de laboratorio donde se expusieron a los alevines *Oreochromis niloticus* en las soluciones con concentraciones de cloruro de cadmio aplicadas a los estanques de agua, posteriormente para ser analizadas microscópicamente sus efectos en los tejidos de los alevines *Oreochromis niloticus*. En la Figura 5 se representa el proceso de conservación de las muestras de biopsia de los tejidos de los alevines *Oreochromis niloticus*, expuestos a las concentraciones de cloruro de cadmio en los acuarios de agua.

3.3. Ámbito temporal y espacial

3.3.1. Ámbito temporal

El presente trabajo se elaboró en el Laboratorio de toxicología la Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y Acuicultura de la Universidad Federico Villarreal”, durante los meses de febrero a noviembre 2018.

3.3.2. Ámbito espacial

El proyecto se elaboró en dos laboratorios de diferentes universidades para poder determinar los daños que presentaron los tejidos a estudiar.

El desarrollo del bioensayo se desarrolló en el Laboratorio de toxicología la Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y Acuicultura de la Universidad Federico Villarreal.

Y la lectura de las láminas se realizó el laboratorio de Ictiopatología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Mayor Nacional de San Marcos.

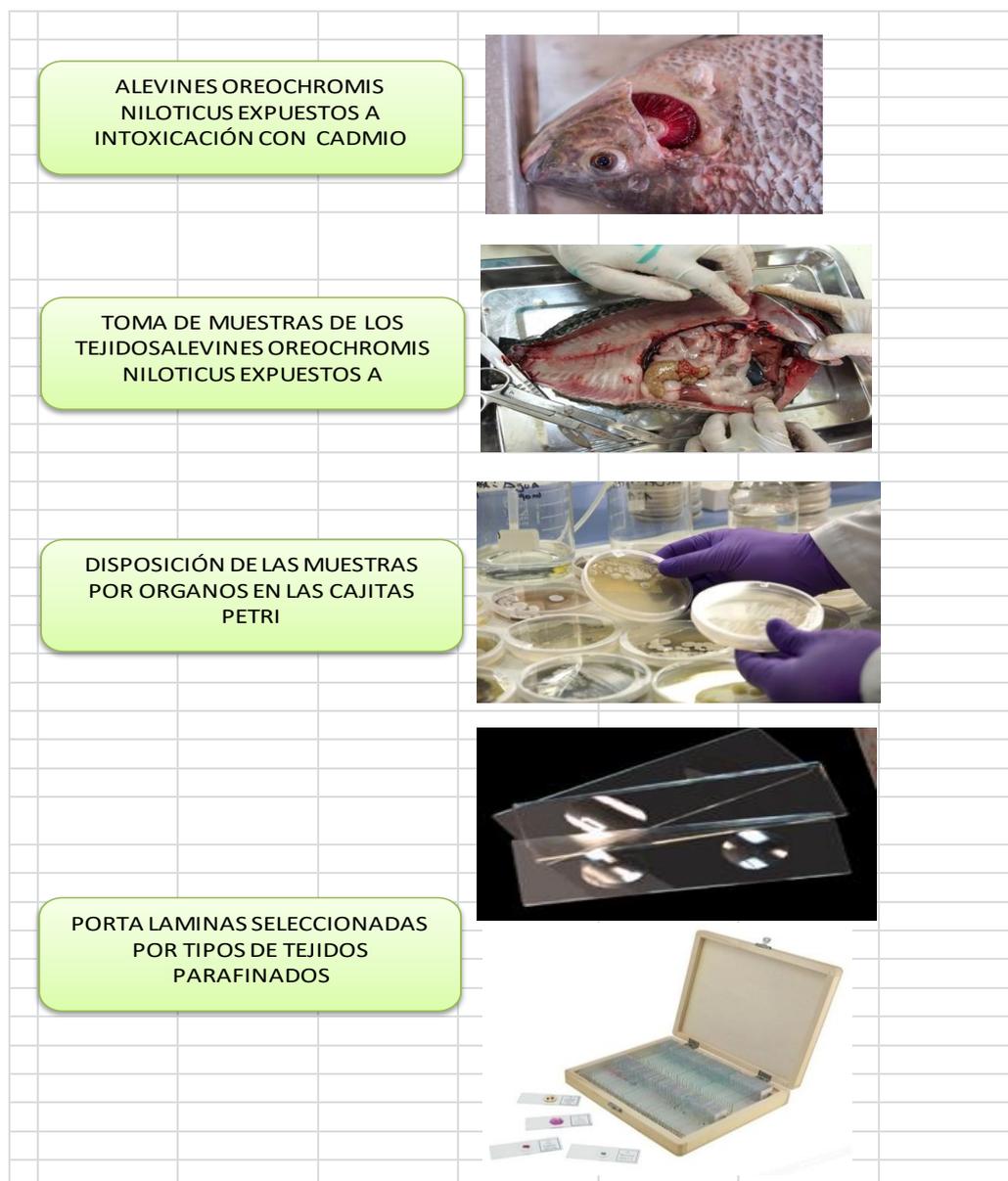


Figura 5. Conservación de las muestras de biopsias de los tejidos parafinados de los alevines *Oreochromis niloticus*

Fuente: Elaboración propia

3.4. Variables

Para el presente trabajo se ha trabajado dos variables:

VI = Cloruro de cadmio

VD= Respuesta histopatológica en alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*

El estudio ha considerado ciertos cambios en los tejidos de los peces:

- Descripción macroscópica: Color, Textura, Tamaño, Irritación, Mucus

- Descripción microscópica: tamaño, márgenes del tumor, márgenes positivos, márgenes negativos, márgenes cercanos, otro tipo de información.

3.5. Población y muestra

Población

Para el estudio emplearon alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* con características homogéneas, procedentes de agua dulce, seleccionados macroscópicamente, excluyendo a aquellos con lesiones o alteraciones morfológicas

Muestra

Para el estudio se seleccionaron a 120 alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* con características homogéneas, seleccionados macroscópicamente, excluyendo a aquellos con lesiones o alteraciones morfológicas.

Creswell (2013) considera otros tipos de muestras cuando se trata de investigación cualitativa, entre ellas la muestra homogénea que permiten la selección teniendo en cuenta las mismas características, perfil o rasgos, que permiten resaltar situaciones o procesos en el grupo de estudio.

3.6. Instrumentos

3.6.1. Materiales de vidrio

- Fiola (1000 ml)
- Bagueta
- Vaso de precipitado (10 ml)
- Pipeta (1ml y 2 ml)
- Acuarios con diseño de vasos comunicantes dividido en dos de las mismas dimensiones (40 litros cada división)

3.6.2. Otros

- Caja de papel indicador de pH

- Pizeta con agua destilada
- Aireador o difusor de oxígeno
- Ictiómetro
- Mallas Colectoras
- Termómetro de alcohol
- Lapiceros
- Libreta de apuntes
- Guantes de nitrilo (caja)
- Baldes (10 l)

3.6.3. Material biológico

- Tilapia - *Oreochromis niloticus* (120 peces)

3.7. Procedimiento

3.7.1. Obtención de alevinos, transporte y aclimatación

Los peces se adquirieron de un criadero local de la provincia de ATE, se adquirieron 120 alevines de tilapia. El transporte se realizó en un cooler con las siguientes condiciones:

- En bolsas de plástico con la relación 1:2 de agua y aire.
- Se vigiló constantemente la condición de los peces para reducir el estrés y con ello la mortalidad.
- Cuando se llegó al laboratorio de Toxicología de la Facultad de Oceanografía Pesquería y Ciencias Alimentarias se tomó lectura de la temperatura de llegada de las bolsas con las tilapias, además se preparó con anticipación un acuario de 1 000 Litros con una temperatura entre 25°C a 30°C y pH neutro.
- Para la aclimatación se introdujo la bolsa de tilapias dentro del acuario y cada 10 minutos se procedía a llenar con un volumen significativo de agua del acuario el interior de las bolsas para homogenizar la temperatura interior de la bolsa.

- Este proceso duro aproximadamente una hora y media.
- Se mantuvieron en cuarentena durante 20 días y se les trato con albendazol, azul de metileno y verde de malaquita, para así eliminar factores externos que puedan alterar los resultados.
- Se controló la temperatura y su alimentación el tiempo que duro la cuarentena.

3.7.2. Biometría

Proceso que consiste en determinar la longitud total y estándar, este proceso me permitió determinar la cantidad de alimento que se suministrará a los alevinos, para ello emplee un Ictiómetro para determinar el peso se utilizó una balanza electrónica de precisión 0,1 gramo. Se colocó un vaso precipitado con agua y se anotó el peso, luego se colocó un alevino y se anotó el peso, para obtener el peso del alevino se restó el peso inicial y peso final.

Tabla 1.
Datos para el cálculo de ración alimenticia para peces.

Unidad	cm	g
1	2,9	2,0
2	3,0	2,8
3	3,0	3,1
4	3,0	2,8
5	2,9	3,0
6	3,1	3,4
7	3,3	3,1
8	3,0	2,8
9	2,7	2,9
10	2,9	3,2
Promedio	3,0	2,9

Fuente: Elaboración propia

El porcentaje de alimentación se obtiene con la siguiente fórmula (Anexo 5):

$$\begin{aligned}
 & (N^\circ \text{ de peces}) \times (\text{peso promedio}) \times (\% \text{ de alimentación}) \\
 & \text{Calculo de ración} = (10) \times (2,9g) \times (10 \%) \\
 & \text{Calculo de ración} = 2.9g \times \text{dia}
 \end{aligned}$$

3.7.3. Preparación de los acuarios

Para realizar el procedimiento de intoxicación con cloruro de cadmio se elaboraron 6 acuarios utilizando el diseño según la imagen de la Figura 6:

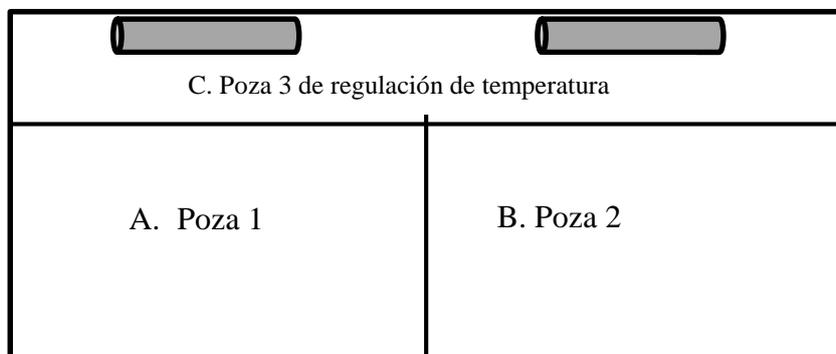


Figura 6. Vista superior del acuario
Fuente: Elaboración propia

Las pozas A y B contienen un volumen de 20 litros, mientras la zona C se destinará agua al mismo nivel de los acuarios para transmitir el calor a los acuarios se usaron 2 termostatos graduados a 28° C.

Estos acuarios se prepararon con anticipación con el fin de acondicionar el medio, se mantuvo constante la aireación y la limpieza del medio con un recambio del 30 % cada tres días. En cuanto a la alimentación se realizó de manera normal.

3.7.4. Preparación de las concentraciones de cloruro de cadmio

Preparación de la solución patrón

Se solicitó los reactivos al laboratorio de fisicoquímica.

La concentración total de la solución patrón fue de 1 037,95 ppm

La solución patrón se me proporciono en una fiola de 1 000ml.

Preparación de las concentraciones para el bioensayo

Se realizaron cinco diluciones según:

Tabla 2.*Preparación de Diluciones para el Bioensayo.*

Estaciones	Concentración de solución patrón (ppm)	Volumen de solución patrón (ml)	Concentración requerida (ppm)	Volumen total para la dilución (l)
Mx1	1 037,95	0,4	0,02	30
Mx2	1 037,95	0,8	0,04	30
Mx3	1 037,95	1,2	0,06	30
Mx4	1 037,95	1,5	0,08	30
Mx5	1 037,95	1,9	0,10	30

Nota: Todas fueron medidas usando una pipeta de 1ml y de 2 ml

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

Mx = muestra

Cantidad de solución patrón que se requiere para preparar las diluciones de cloruro de cadmio, diluida en 20 litros de agua.

3.7.5. Bioensayo

3.7.5.1. Bioensayo preliminar

Para esta etapa se acondicionó los acuarios en una mesa resistente y lo suficientemente amplia para realizar el proyecto, se declaró el agua en una relación de 1:1, es decir una gota por cada litro de agua. El volumen total en cada acuario fue de 20 litros de agua. Los acuarios fueron distribuidos como lo muestra la Figura 7.

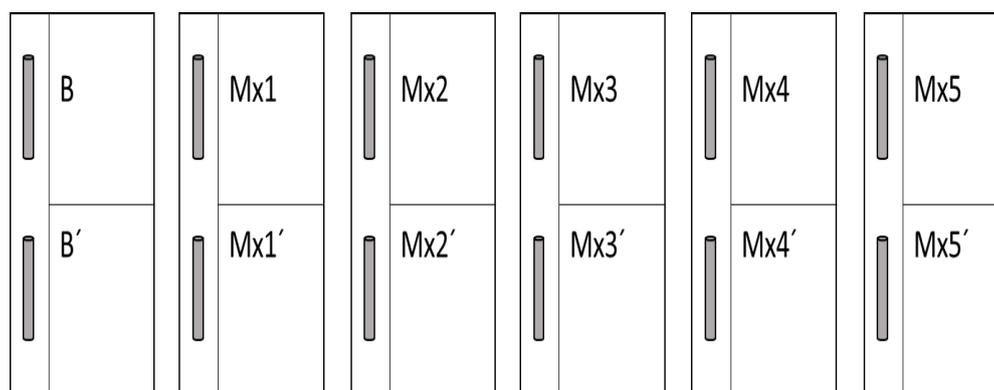


Figura 7. Distribución de acuarios y Formulación propia

Fuente: Elaboración propia

3.7.5.2. *Diseño experimental*

Para iniciar el experimento, se ha realizado un conjunto de actividades, que a continuación se detallan:

- Se seleccionaron los alevines del acuario de cuarentena, asegurándose que los peces para la experimentación estén libres de enfermedades y parásitos.
- Se suspendió la alimentación de los peces por 24 horas antes del inicio del experimento.
- Se hicieron dos replicas en simultaneo, utilizando 10 peces por acuario para cada concentración de cloruro de cadmio.
- Durante el periodo de experimentación se mantuvieron las mismas condiciones de calidad de agua en cada acuario-
- Para la verificación de las características macroscópica en los peces, se hizo uso de las fichas de observación. (Anexo 06)

Tabla 3.

Distribución de las tilapias en los acuario

Concen- tración	Concentración de Cloruro de Cadmio en 20 l. de agua. (mg/l)		N° de peces por acuario		Talla (cm) promedio		Volumen (l)		Densidad (pez/l)	
	Mx	Duplicado Mx	Mx	Duplicado Mx	Mx	Duplicado Mx	Mx	Duplicado Mx	Mx	Duplicado Mx
	B	0	0	10	10	2.9	3.0	20	20	1
Cc 1	0,02	0,02	10	10	2.9	2.8	20	20	1	1
Cc 2	0,04	0,04	10	10	3.0	3.1	20	20	1	1
Cc 3	0,06	0,06	10	10	3.0	3.0	20	20	1	1
Cc 4	0,08	0,08	10	10	3.3	2.9	20	20	1	1
Cc 5	0,10	0,10	10	10	2.9	3.0	20	20	1	1

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda

B Grupo control

Cc Concentración

Mx Muestra

Dup.Mx Muestra Replicada

3.7.5.3. Bioensayo final

En esta etapa se sometió a los peces seleccionados a las concentraciones descritas anteriormente, ejecutándolas siguientes actividades:

- Se siguió los mismos pasos del acondicionamiento para introducir los peces a los acuarios con concentraciones diferentes de Cloruro de Cadmio,
- Se realizó el control de calidad de agua en términos adecuados.
- Se ha suministrado el alimento en forma diaria.
- El bioensayo duró un periodo de 10 días consecutivos.
- El bioensayo se realizó por replica a la vez a fin de cuantificar las lesiones que se puedan presentar en relación a la concentración de Cloruro de Cadmio.

3.7.6. Procesamiento de los peces seleccionados

3.7.6.1 Preparación de la muestra para el proceso histológico

Sacrificio

Según Ferguson, Bjerkas y Evensen (2006) su método consiste en el sacrificio de los peces por medio de la punción en la cavidad craneal.

3.7.6.2 Disección de los especímenes

Una vez que se haya comprobado la muerte del pez se procedió con los protocolos de diagnóstico, siguiendo el siguiente proceso:

- El pescado fresco se colocó en una bandeja
- Se tomó las medidas de los parámetros biométricos necesarios: sexo, tamaño, peso, y se anotaron en las fichas.
- Se realizó la inspección macroscópica, anotando la presencia de anomalías en la piel como, la característica del mucus, úlceras, heridas, erosiones, puntos, etc.

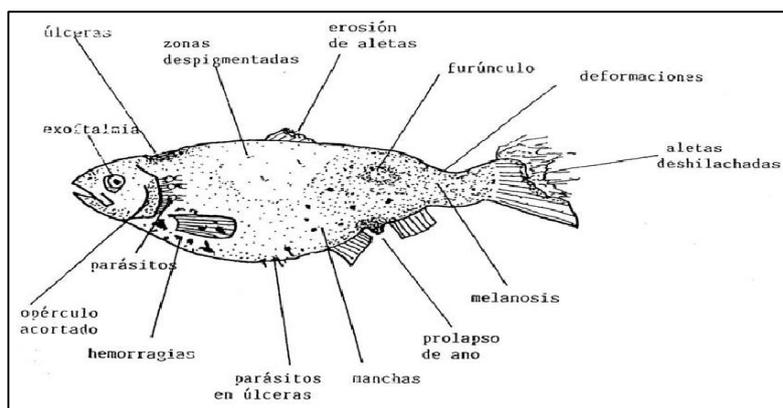


Figura 8. Observación externa del pez.

Fuente: Manual de Técnicas básica de diagnóstico patológico en pees. Zarza (2005)

- Se hizo uso del llenado de la ficha de observación con los datos obtenidos durante la revisión (Anexo 7)

Separación del opérculo y branquias

- Procedí a cortar el opérculo con la técnica como se observa en la Figura 09. Con ayuda de una pinza y tijeras corté las uniones de las branquias y las extraje con mucho cuidado, para luego colocarlas en una placa Petri con suero fisiológico, posteriormente observo cada uno de los arcos branquiales observando su color, aspecto y presencia de formaciones extrañas. Al final las coloco en un frasco con formol neutro 10%, como se aprecia en la Figura 10

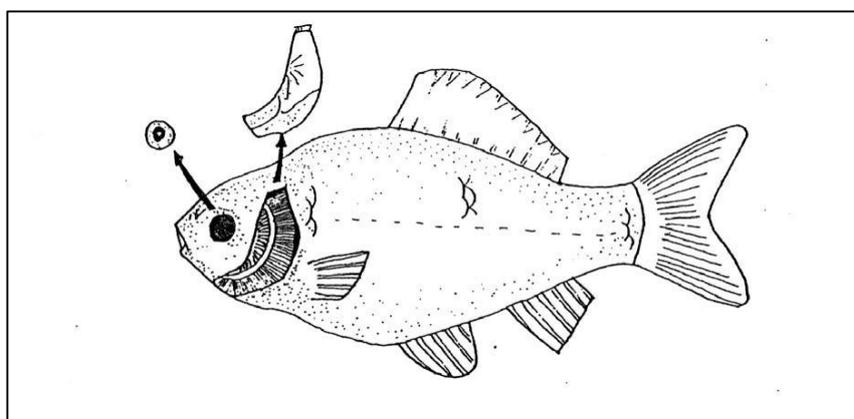


Figura 9. Disección del opérculo de las branquias del pescado

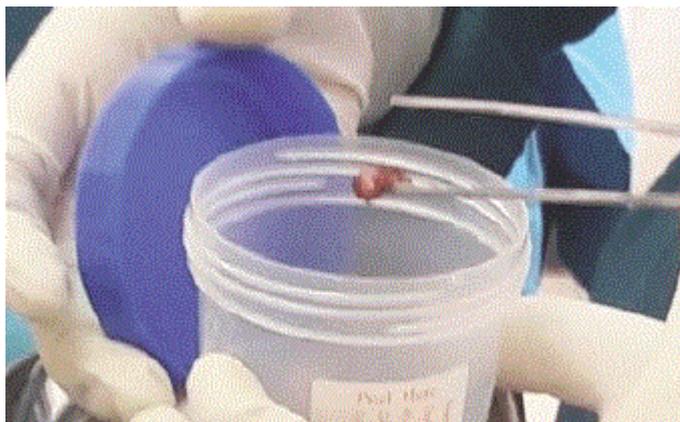


Figura 10. Frasco con formol para la colocación de la muestra tomada

Cavidad abdominal

Para la apertura de la cavidad abdominal, procedí del modo siguiente:

- Realizar una incisión a nivel del ano (recomendamos con tijeras), dirigiéndonos en unos 45 grados y en dirección craneal hacia la línea lateral del ejemplar, siguiendo la incisión cranealmente más o menos a nivel de esta línea lateral hasta llegar a la región branquial, como se observa en la Figura 11.
- A continuación, volver al ano y realizaremos una incisión en dirección craneal en la línea media ventral hasta llegar a la base de las branquias.
- Realizar una tercera incisión uniendo los dos cortes en la zona branquial y podremos levantar la pared abdominal.
- Al levantarla, observé si hay adherencias y el aspecto que presenta la cara interna del abdomen. Reconocer todos y cada uno de los órganos internos, su color y aspecto. Retiré la vejiga natatoria para exponer mejor el riñón. También se puede cortar a nivel de esófago e intestino posterior y extraer el paquete visceral para su mejor examen. En este punto se observó y anotó cualquier lesión aparente.

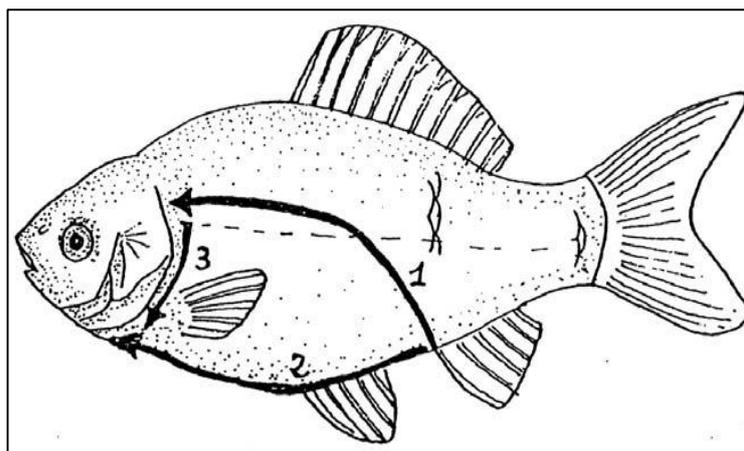


Figura 11. Disección abdominal del pez

3.7.6.3. Fijación de las muestras y análisis histopatológicos de las muestras con métodos y técnicas de análisis en laboratorio

Para la fijación de las muestras se utilizó:

Frascos de plástico de 100 ml en los cuales se colocaron el fijador formol neutro 10%, se empleó la proporción 20/1 (20 ml de fijador por 1 volumen de muestra, según la recomendación de Castro (2011).

Se realizó la identificación de las muestras,

Se introdujo dentro de los frascos el rotulo hecho de papel cansón con los siguientes datos: fecha de muestreo, concentración de cloruro de cadmio, órganos e identificar si es el duplicado del ensayo como se muestra en la Figura 12.

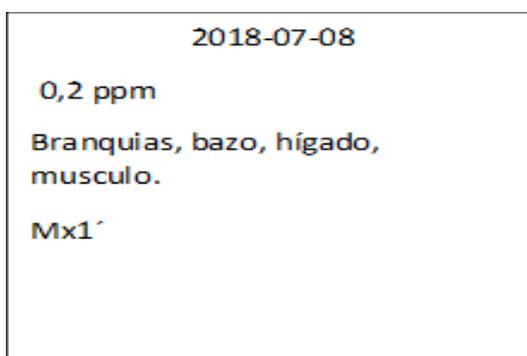


Figura 12. Modelo de identificación de los frascos de las muestras biológicas,

Fuente: Elaboración propia.

Se realizaron los cortes y la tinción de los tejidos en el laboratorio de Histología, embriología y patología veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el método utilizado fue el de coloración de Hematoxilina – eosina siguiendo una metodología convencional Di Fiore (2001). Las preparaciones histológicas fueron analizadas y fotografiadas, obteniendo cortes de 4 micras de espesor. (Anexo 8)

IV. Resultados

4.1. Análisis de datos

Dentro de las alteraciones histológicas en bazo encontradas (Tabla 4), la necrosis fue el hallazgo más frecuente, en un 93,3 % (112/120). Los granulomas se presentaron de manera leve en un 40 % (48/120), también se presentó infiltración de células inflamatorias de manera leve en un 20 % (24/120), por último, el 6,6 % de las muestras presentaron congestión

Tabla 4.

Resultado histopatológico de hallazgos en bazo de tilapias

Hallazgos en bazo	Grado de afección					Alteración	
	Normal	Escaso	Leve	Moderado	Severo	Total	%
Necrosis	8	24	64	24	0	112/120	93,3
Infiltración de células inflamatorias	96	0	24	0	0	24/120	20
Congestión	112	8	0	0	0	8/120	6,6
Granulomas	72	0	32	0	16	48/120	40

Fuente: Elaboración propia

Los hallazgos que se encontraron en las branquias (Tabla 5.) en su mayoría presentaron fusión de lamelas, edema perilamelar e hiperplasia en un 73,3 % (88/120), además de congestión lamelar y atrofia de lamelas en un 66,7 % (80/120) y un bajo porcentaje de necrosis de 6,7 % (16/120).

Tabla 5.*Resultado histopatológico de hallazgos en branquias de tilapias*

Hallazgos en branquias	Grado de afección					Total	Alteración %
	Normal	Escaso	Leve	Moderado	Severo		
Congestión lamelar	40	0	56	24	0	80/120	66,7
Fusión de lamelas	40	32	40	8	0	80/120	66,6
Atrofia de lamelas	40	0	40	40	0	80/120	66,6
Necrosis	56	0	8	0	0	8/120	6,6
Hiperplasia de las células epiteliales	40	32	40	8	0	80/120	66,6
Edema perilamelar	16	8	64	16	0	88/120	73,3

Fuente: Elaboración propia

Para las alteraciones histológicas en el hepatopáncreas (Tabla 6), la necrosis fue el hallazgo más frecuente, en 86,6 % (104/120), la degeneración hidrópica y congestión hepática se encontraron también en un 86,6 % en una razón de (104/120). Siendo las menos frecuentes la infiltración de células inflamatorias y degeneración grasa en un 2,6 % (16/120).

Tabla 6.*Resultado histopatológico de hallazgos en el hepatopáncreas de tilapias*

Hallazgos en hepatopáncreas	Grado de afección					Total	Alteración %
	Normal	Escaso	Leve	Moderado	Severo		
Degeneración hidrópica	16	0	8	80	16	104/120	86,7
Congestión hepática	16	0	24	80	0	104/120	86,7
Necrosis	8	32	64	16	0	104/120	86,7
Infiltración de las células inflamatorias	104	8	8	0	0	16/120	2,6
Degeneración grasa	104	0	0	8	8	16/120	2,6

Fuente: Elaboración propia

En el caso de la musculatura esquelética axial (Tabla 7.) la mayor presencia fue de necrosis en un 66,6 % (72/120) de manera escasa y leve. De manera escasa en un 33,3 % (40/120) de

presencia de granulomas, y de forma leve en un 20 % (24/120) infiltración de células inflamatorias y congestión.

Tabla 7.

Resultado histopatológico de hallazgos en músculos de tilapias

Hallazgos en músculos	Grado de afección					Total	Alteración %
	Normal	Escaso	Leve	Moderado	Severo		
Congestión	96	0	24	0	0	24/120	20,0
Necrosis	48	40	32	0	0	72/120	60,0
Presencia de granulomas	80	40	0	0	0	40/120	33,3
Infiltración de células inflamatorias	96	0	24	0	0	24/120	20,0

Fuente: Elaboración propia

4.2 Determinación de lesiones en branquias

Las branquias son órganos que se encuentran a ambos lados del cuerpo del pez, detrás de la cabeza, son cuatro arcos branquiales que forman un juego de branquias, a su vez el arco branquial está conformada por una estructura cartilaginosa con dos filas de filamentos branquiales. Estos filamentos se subdividen en láminas blancas que se encuentran dispuestas perpendicularmente. Los filamentos branquiales poseen un epitelio estratificado, constituido por diversos tipos de células, entre los cuales fue posible distinguir las células de cloro, mucosas y suelos. El epitelio se asienta sobre el seno venoso central y se encuentra segmentado por ejes vasculares que originan las lamelas. Estas estructuras representan proyecciones de tejido por encima de la superficie externa del epitelio filamentos, como se aprecia en la Figura 13.



Figura 13. Filamentos branquiales del grupo control, con presencia escasa de edema perilamelar (Ep). Amento: x400
Fuente: Elaboración propia

De este modo, las lamelas están constituidas centralmente por un eje vascular y por un epitelio compuesto por células pavimentadas de revestimiento e indiferenciadas. Este epitelio se asienta en la lámina basal de células endoteliales modificadas (células pilares) que soportan y delimitan el compartimiento sanguíneo lamelar. Según García et al (2007).

El grupo control mostro características dentro lo normal con leve edema perilamelar. sin embargo, los peces que fueron sometidos a intoxicación por cloruro de cadmio mostraron diferentes alteraciones en las branquias, con características de edema perilamelar (Figura 13.), congestión perilamelar (Figura 14), atrofia, hiperplasia de lamelos y escasa fusión lamelar (figura 15), hiperplasia lamelar (Figura 16), congestión lamelar (Figura 17), atrofia de lamelos (Figura 18) fusión de lamelos (Figura 19 y 20).

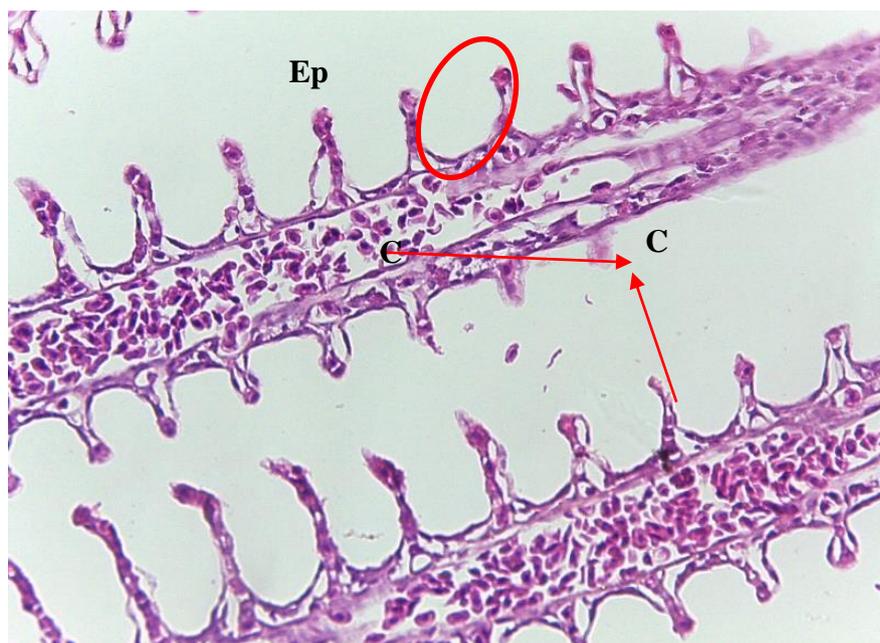


Figura 14. Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,02 mg/l, se aprecia leve edema perilamelar (Ep), leve congestión (C).

Aumento: x400

Fuente: Elaboración propia

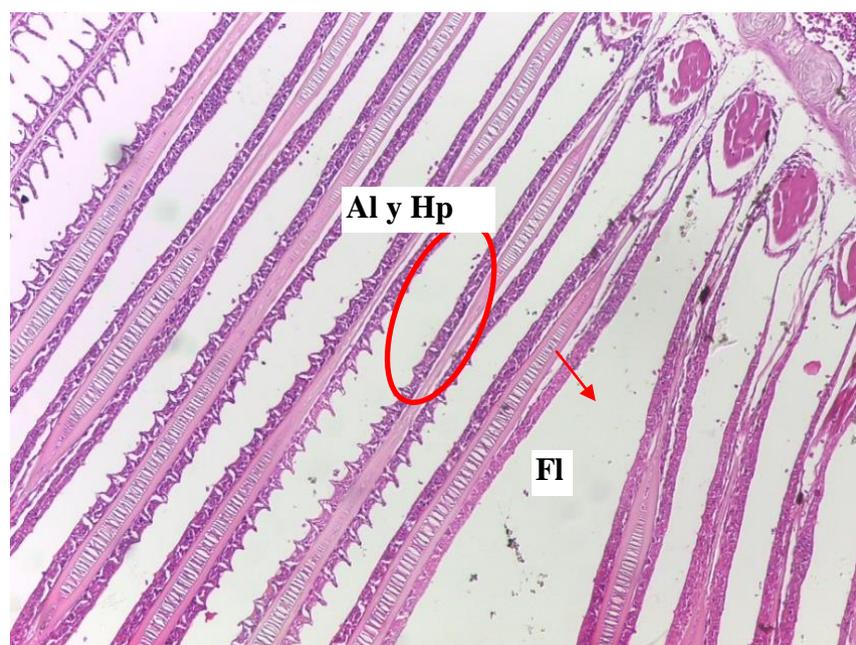


Figura 15. Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,02 mg/l, con moderada atrofia de lamelas (Al), escasa hiperplasia de lamelas (Hp) y escasa fusión de lamelas (Fl). Aumento: x100

Fuente: Elaboración propia

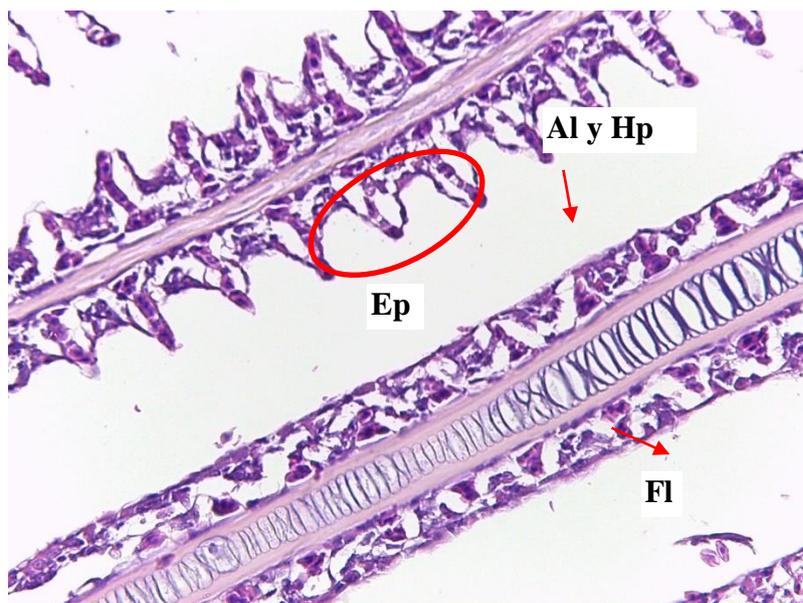


Figura 16. Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,04 mg/l, atrófia de lamelas (Al), hiperplasia de lamelas (Hp) y fusión de lamelas (Fl). Aumento: x100

Fuente: Elaboración propia

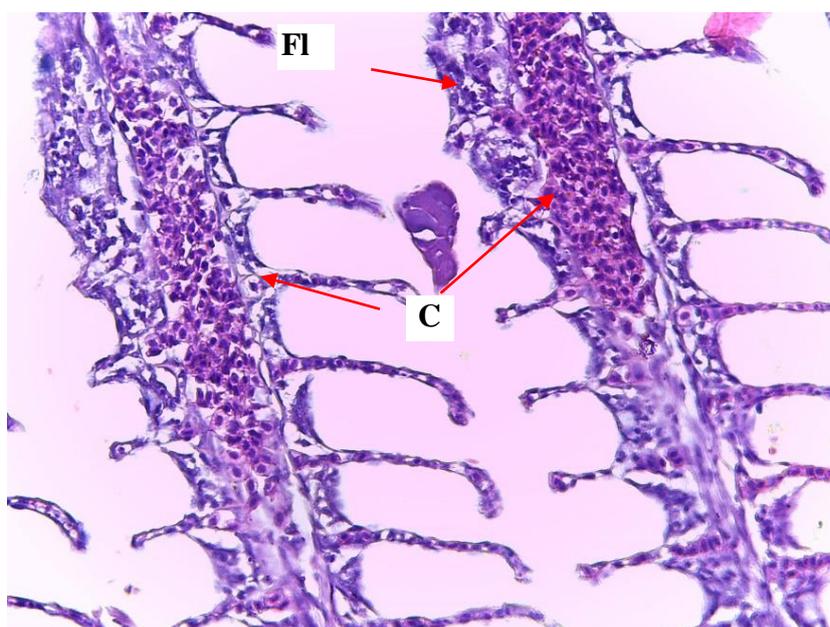


Figura 17. Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,04 mg/l, hiperplasia de lamelas (Hp) y congestión (C). Aumento: x400

Fuente: Elaboración propia

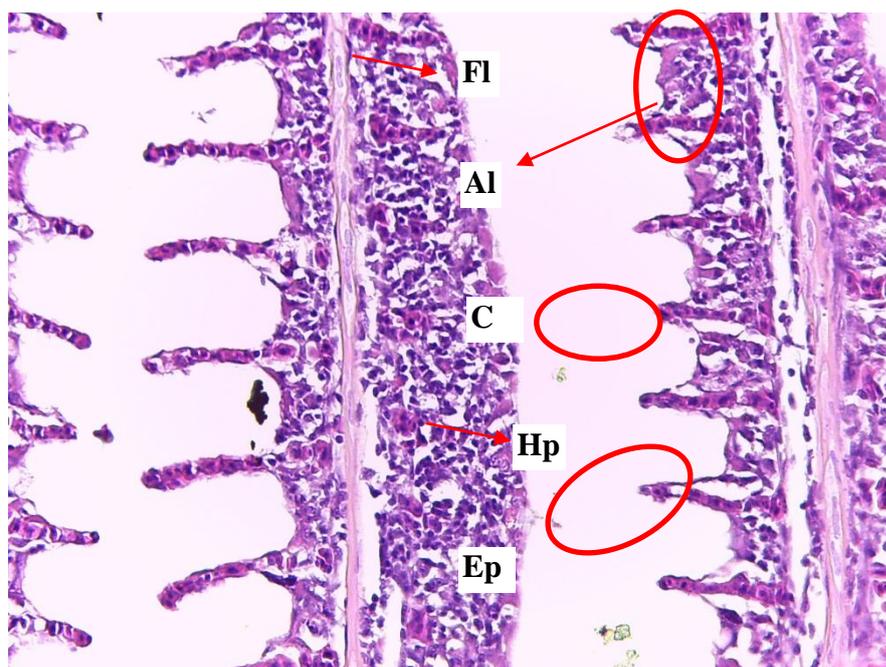


Figura 18. Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,06 mg/l, hiperplasia de lamelas (Hp), congestión (C), edema perilamelar (Ep), atrofia de lamelas (Al), fusión de lamelas (FI). Aumento: x400

Fuente: Elaboración propia

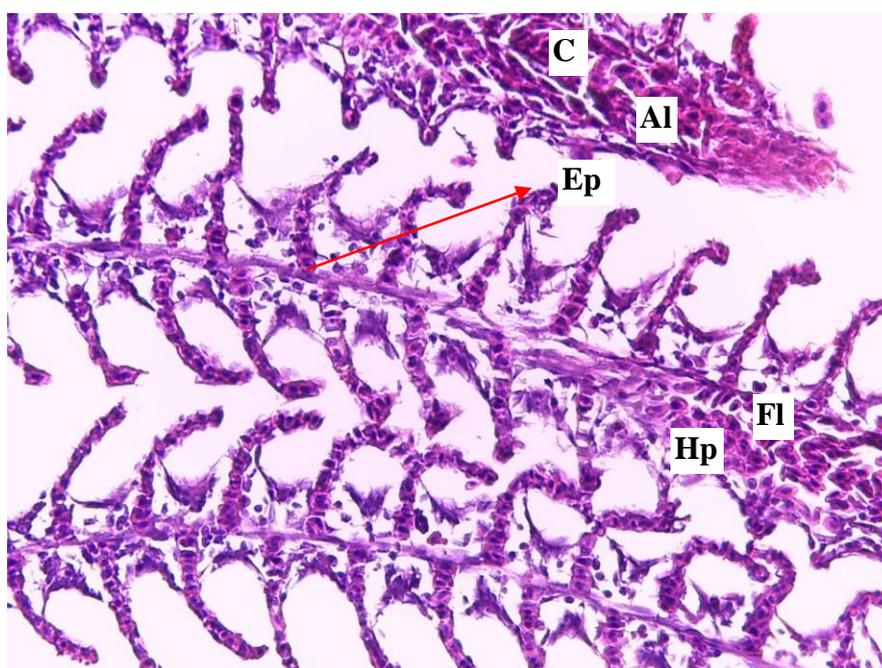


Figura 19. Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,08 mg/l, hiperplasia de lamelas (Hp), congestión (C), edema perilamelar (Ep), atrofia de lamelas (Al), fusión de lamelas (FI). Aumento: x400

Fuente: Elaboración propia

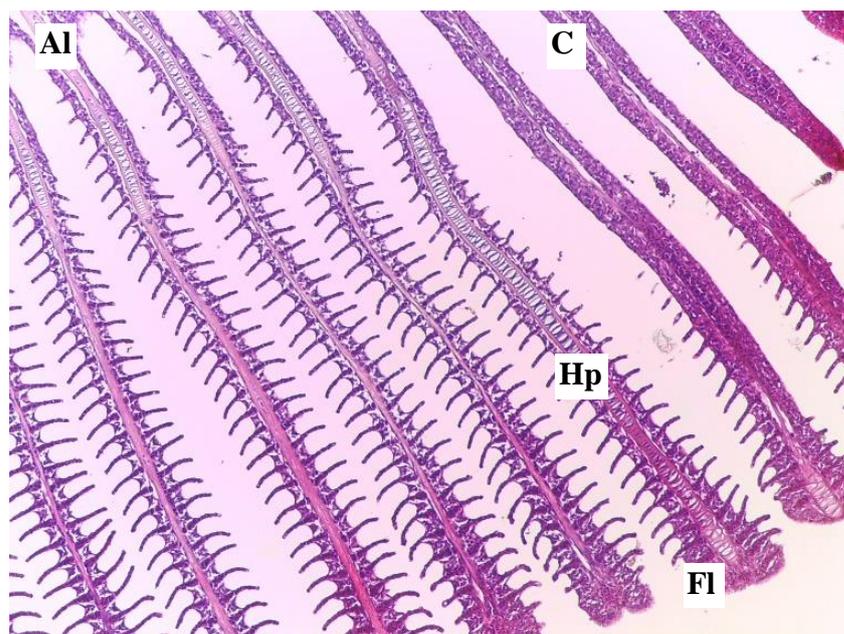


Figura 20. Filamentos branquiales de los peces sometidos a concentraciones de 0,1 mg/l, hiperplasia de lamelas (Hp), congestión (C), atrofia de lamelas (Al), fusión de lamelas (Fl). Aumento: x100

Fuente: Elaboración propia

Según la información se puede concluir:

Tabla 8.

Presencia de lesiones en branquias, en relación a la concentración de cloruro de cadmio

Hallazgos	Grupo control	Concentración de 0,02 mg/l	Concentración de 0,04 mg/l	Concentración de 0,06 mg/l	Concentración de 0,08 mg/l	Concentración de 0,10 mg/l
Congestión lamelar	-	+	+	++	++	+++
Fusión de lamelas	-	+	++	++	++	+++
Atrofia de lamelas	-	-	+	++	+++	+++
Necrosis	-	-	-	-	+	++
Hiperplasia de las células	-	+	+	++	++	+++
Edema perilamelar	+	+	+	++	++	++

Fuente: Elaboración propia

4.3. Determinación de lesiones en músculo

Analizando los tejidos de las Figuras 21 y 22, la musculatura esquelética, se encontraron la presencia de granulomas, congestión, necrosis, e infiltración de células inflamatorias.

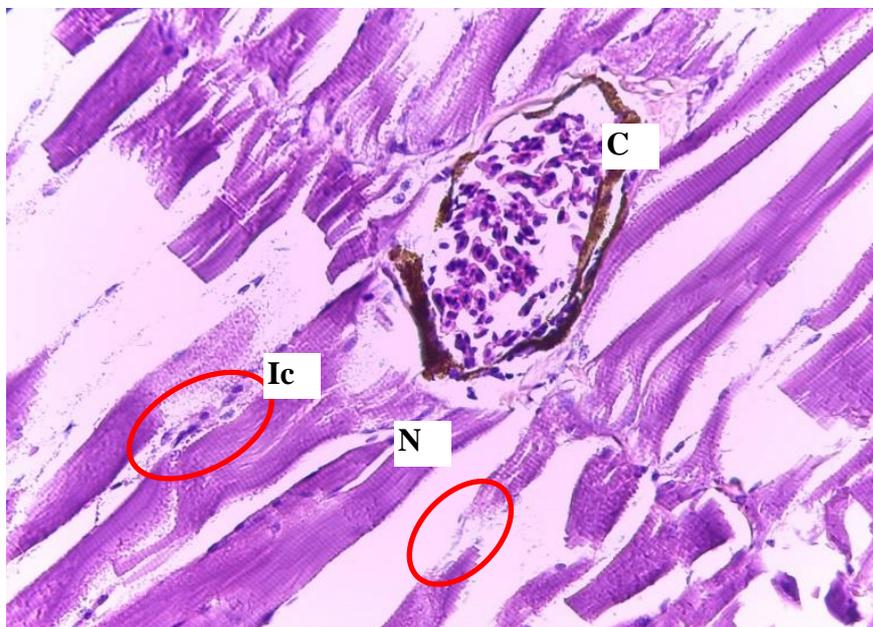


Figura 21. Musculatura esquelética del grupo control, necrosis (N), congestión (C), infiltración de células inflamatorias (Ic). Aumento: x400
Fuente: Elaboración propia

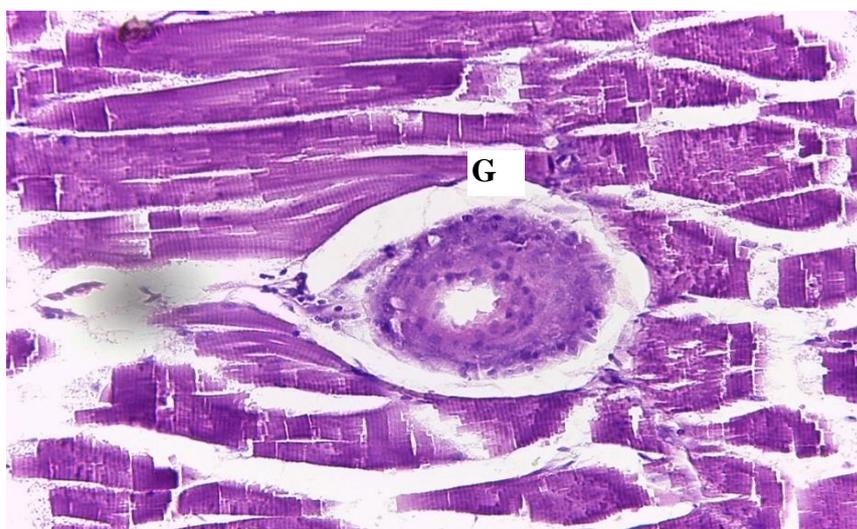


Figura 22. Musculatura esquelética en los peces expuestos a una concentración de 0,10 mg/l. granuloma (G). Aumento: x400.
Fuente: Elaboración propia

En las siguientes concentraciones se evidencian las mismas lesiones de manera leve, sin embargo, en la concentración 0,10 mg/l se puede apreciar las lesiones de leves a moderadas.

Tabla 9.

Presencia de lesiones en músculos, en relación a la concentración de cloruro de cadmio

Hallazgos	Grupo control	Concentración de 0,02 mg/l	Concentración de 0,04 mg/l	Concentración de 0,06 mg/l	Concentración de 0,08 mg/l	Concentración de 0,10 mg/l
Congestión	+	+	+	+	++	++
Presencia de granulomas	-	+	+	+	++	++
Infiltración de células inflamatorias	+	+	+	+	+	++
Necrosis	+	+	+	++	++	++

Fuente: Elaboración propia

4.4. Determinación de lesiones en bazo

En el caso del bazo y la hepatopáncreas al ser los órganos en los cuales se almacenan los metales, se ha podido evidenciar las siguientes lesiones: infiltración de células inflamatorias, necrosis, congestión, granulomas, degeneración hidrópica y degeneración grasa.

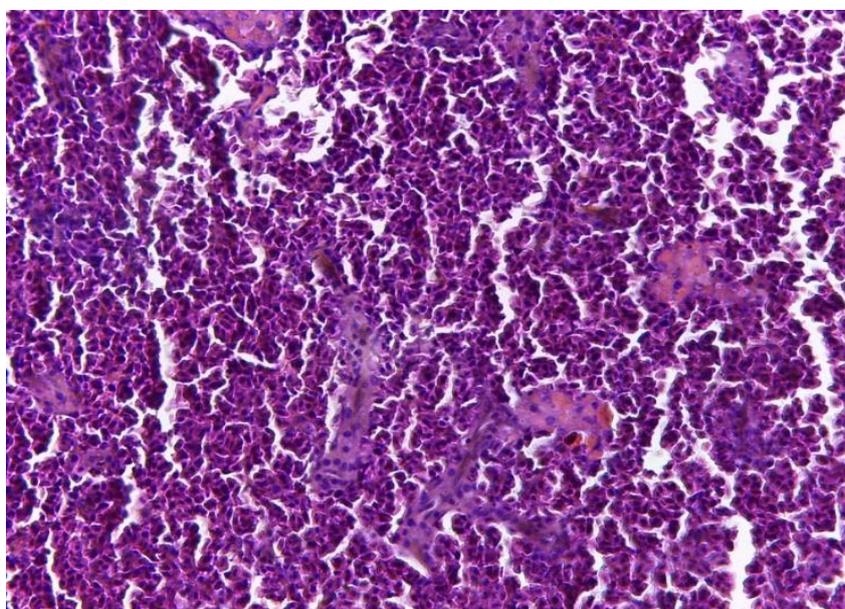


Figura 23. Bazo de peces del grupo control. Sin presencia de lesiones. 1Aumento: x400

Fuente: Elaboración propia

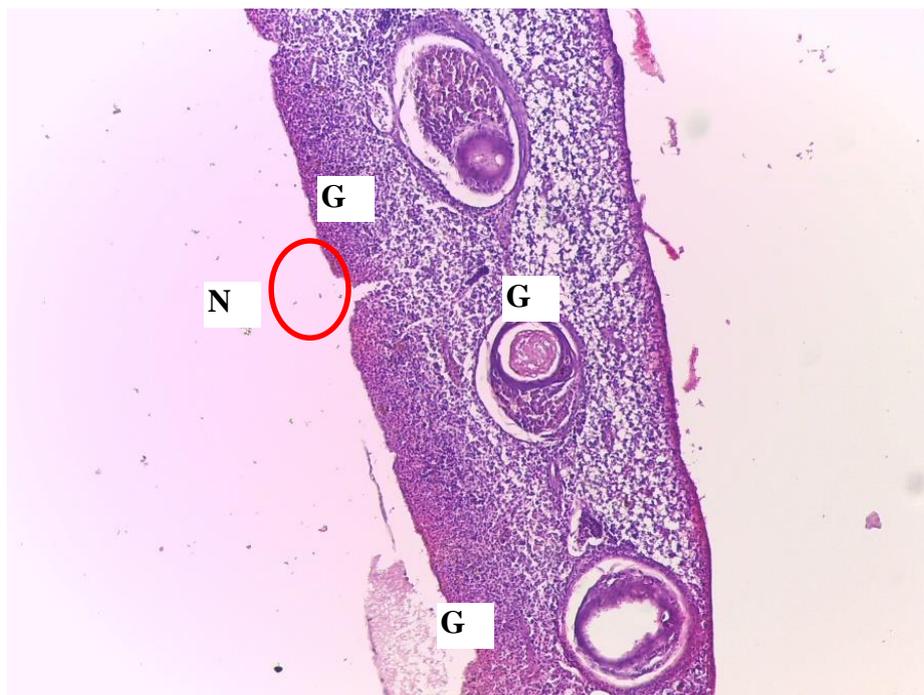


Figura 24. Bazo de los peces sometidos a concentraciones de 0,08 mg/l, granulomas (G). Aumento: x100
Fuente: Elaboración propia

4.5. Determinación de lesiones en el hepatopáncreas

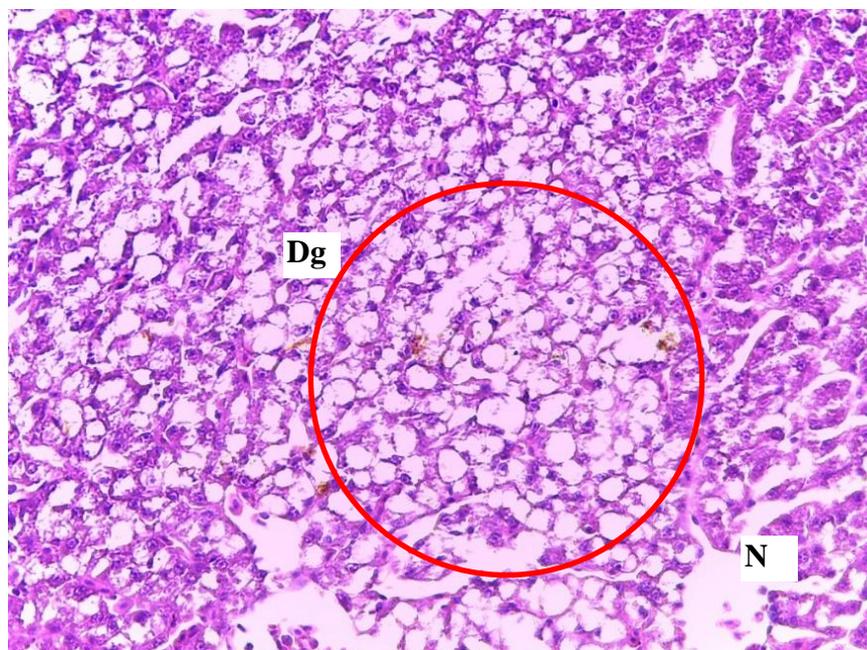


Figura 25. Hígado del grupo control, degeneración grasa (Dg), necrosis (N), degeneraciones grasas. Aumento: x400
Fuente: Elaboración propia

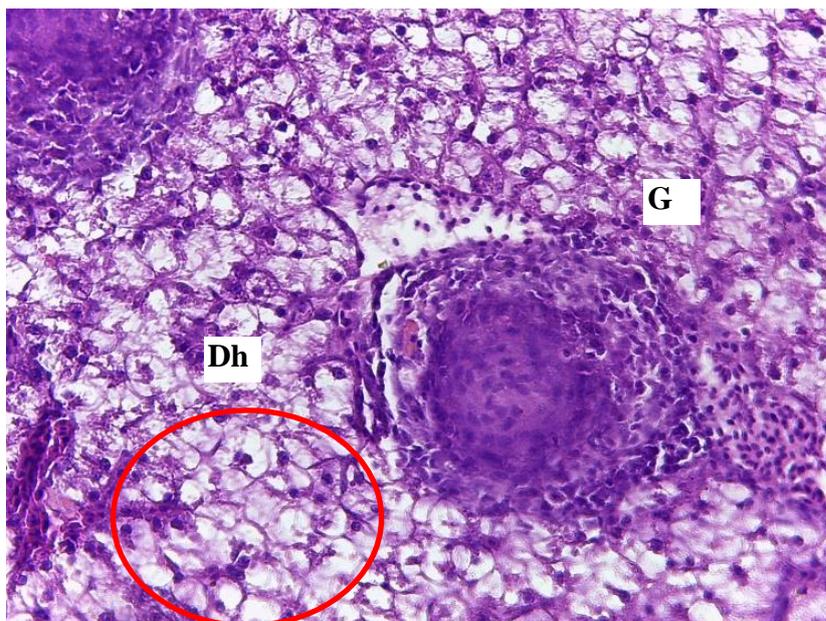


Figura 26. Hígado de las tilapias expuesto a 0,1 mg/l, granuloma (G), degeneración hidrópica (Dh). Aumento: x400
Fuente: Elaboración propia

V. Discusión de resultados

A partir de los hallazgos encontrados, aceptamos la hipótesis general que establece que el tiempo de exposición al cloruro de cadmio ocasiona respuestas histológicas en los alevinos de tilapia *Oreochromis niloticus*.

Los resultados obtenidos guardan relación los trabajos de Rengel et. al (1995), (Rangel et. al (1997) con concentraciones de 0.01 mg/l hasta 1 mg/l, Garcia, Monteiro, Carrola y Fontaihnas-Fernandes (2007), Hiir y Domitrovic (2002), Sawsan et. al (2012) y Ferrari, Lorena Alejandra y Salibian (2009), quienes señalan que los peces expuestos al cloruro de cadmio presentan daños histológicos a nivel de las branquias, hígado, bazo. Esto es acorde con lo que en este estudio se halla.

Pero en los estudios mencionados anteriormente no hacen referencia a los hallazgos de granulomas en el hígado, estos encontrados en mayor cantidad en las concentraciones mayores de 0,06 mg/l. los estudios tampoco hacen referencia del impacto del estrés en los peces al cual son sometidos disminuyendo su inmunidad.

Sawsan et. al (2012) menciona que concentraciones de 10 mg/l ocasionan daños a las branquias e hígado, en peces de mayor tamaño y más tiempo de exposición, sin embargo, los hallazgos encontrados por Hirt y Domitrovic (2002) no describen daños a nivel de la hepatopáncreas.

Rengel et. al (1997) sostiene daño de las branquias y concuerda con los hallazgos obtenidos a concentraciones de exposición de 0.3 mg/l hasta 1mg/l. sin embargo Ferrari et. al (2009) en su trabajo encontró que en las branquias se manifestaron daños a concentraciones de 0.3 mg/l.

No se encontró referencia bibliográfica para realizar la comparación de los datos obtenidos de bazo y músculo con respecto a los daños histológicos encontrados en el presente trabajo.

VI. Conclusiones

- En el presente trabajo se determinó que las concentraciones de cloruro de cadmio superior a 0,06 mg/l, causaron mayor daño histopatológico en los tejidos estudiados (branquias, bazo, hígado y músculos), además se pudo observar que existe un mayor aumento de daño celular a medida que las concentraciones aumentan en relación al tiempo de exposición.
- Existe una relación directamente proporcional entre la concentración de cadmio con respecto a la presencia de granulomas en el hígado, bazo y músculo. No se encontró bibliografía en relación a la presencia de granulomas por intoxicación por cadmio en tilapias. Sin embargo se evidenció que la presencia de granulomas era proporcional a la concentración de cloruro de cadmio, se deberá tener en cuenta que esto puede ser consecuencia del debilitamiento del organismo o en todo caso que el pez se encuentre ya con síntomas de alguna enfermedad y al exponerlo al cloruro de cadmio la presencia de granulomas se acentuó.
- Se ha demostrado en este trabajo que concentraciones bajas de cadmio de 0,02 a 0,10 mg/l a una exposición de 10 días causan daños histopatológicos a los alevines de tilapia *Oreochromis niloticus* en un ambiente controlado.
- Se estima que a medida que el crecimiento industrial crezca y la falta de concientización de las personas no cambie, los recursos hídricos naturales y los recursos producidos en criaderos se verán afectados por las consecuencias de la bioacumulación del cadmio.

VII. Recomendaciones

- Realizar un análisis histológico a un grupo control antes de realizar la intoxicación por cadmio, para descartar la presencia de granulomas en los tejidos u otros hallazgos.
- Realizar el estudio con un tiempo de exposición a cloruro de cadmio superior a los 10 días, a fin de estimar si estas bajas concentraciones afectan el crecimiento de las tilapias, ya que la intoxicación por cadmio genera la pérdida de calcio en la estructura ósea.
- Ampliar el número de órganos a estudiar, de tal manera que se pueda determinar otros daños a corto y largo plazo.

VIII. Referencias bibliográficas

- Abimbola, F. (2016). Manual MSD Versión para profesionales. Recuperado de <https://www.msmanuals.com>
- Alamilla, H. (2001). Cultivo de tilapia. Recuperado de <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/tilapia/tilapia.htm>
- ALICORP NICOVITA. (2000). *Manual de crianza tilapia*. Perú: Editado Alicorp S.A. Recuperado de: <http://www.alicorp.com.pe>
- Amaral, A. F., Alvarado, N., Marigomez, I., Cunha, R., Hylland, K. y Soto, M. (2002). Autometallography and metallothionein immunohistochemistry in hepatocytes of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) after exposure to cadmium and depuration treatment. *Biomarkers*, 7 (1). Recuperado de <https://www.tandfonline.com>
- Basurco, F. (1998) *Cultivo comercial de tilapia: oportunidad productiva para el Perú. Información*. Perú: Información CEPIS-OPS-OMS
- Bhujel, R. C. (2002). Nutrición y bajo costo Manejo Alimentario para Tilapia. *Panorama Acuícola*, 7 (4). Recuperado de <https://www.agroindustria.gob.ar>
- Biagini, F. R. , De Oliveira, J. A. y Fontanetti, C. S. (2009) The use of histological, histochemical and ultramorphological techniques to detect gill alterations in *Oreochromis niloticus* reared in treated polluted waters. *Micron*, 40 (8), 839-844.
- Castillo, C.L.F. (2001). *Tilapia Roja 2001: Una evolución de 20 años de la incertidumbre al éxito doce años después*. Cali, Colombia. Recuperado de [www.ag.arizona.edu/azaqua/ista/edited papers/South%20America/Campo-Tilapia Roja.doc](http://www.ag.arizona.edu/azaqua/ista/edited_papers/South%20America/Campo-Tilapia%20Roja.doc).

- Cengiz, E. I. (2006). Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, 22 (1) p 200-204.
- Corey, G., Galvao, L.A.C. (1987). *Cadmio, serie 4*. México: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud OPS/OMS.
- Creswell, J. W. (2013). *Qualitative Inquiry & Research Design: Choosing among Five Approaches*. Thousand Oaks: CA: SAGE.
- Daborn, K., Cozzi, R. R. F. y Marshall, W. S. (2001). Dynamics of pavement cell–chloride cel interactions during abrupt salinity change in *Fundulus heteroclitus*. *J. Exp. Biol*, 204 (1) p 1889-1899.
- Decreto 004 del 2017. [Ministerio del Ambiente]. Por lo cual se aprueban los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua, quedando sujetos a lo establecido en el presente Decreto Supremo y el Anexo que forma parte integrante del mismo. Esta compilación normativa modifica y elimina algunos valores, parámetros, categorías y subcategorías de los ECA, y mantiene otros, que fueron aprobados por los referidos decretos supremos. Junio 7 de 2017.
- Ferguson, H. W, Bjerkas, E. y Evensen O. (2006). *Systemic Pathology of Fish*. London: Scotian Press.
- Ferguson, H. W., Morrison, D., Ostland, V. E., Lumsden, J. y Byrne, P. (1992). Responses of mucus-producing cell gill disease of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Comp. Path*, 106 (1) p 255-65.
- Ferrari, L., Lorena E.B., Alejandra, O. N. y Salibian, A. (2009). Effects of sublethal waterborne cadmium on guills in three teleosteans species: scanning electron microscope study. *International Journal of Environment and Health*, 3 (4).
Recuperado de <https://www.researchgate.net>

- Friberg, L. (1974). Cadmium in the environment. C.R.C.
- García-Santos, S., Monteiro, S., Carrola, J. y Fontaihnas-Fernandes, A. (2007). Alteraciones histopatológicas en branquias de tilapia del nilo *Oreochromis niloticus* causadas por cadmio. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 59 (02). Recuperado de <http://www.scielo.br>
- Garzón, J.C (2012). Calificar los efectos de la poca inversión de la acuacultura a pequeña escala para brindar un asesoramiento enfocado en la tilapia como crianza redituable en el cantón Milagro (tesis de pregrado, Universidad Estatal de Milagro, Milagro, Ecuador) Recuperado de <http://repositorio.unemi.edu.ec>.
- Hernandez Sampieri, R. (2014). *Metodología de la Investigación*. México: Interamericana Editores
- Hir, L., y Domitrovic, H. (2002). Toxicidad y respuesta histopatológica en *Aequidens portalegrensis* (Pisces, cichlidae) expuestos a cloruro de cadmio en ensayos de toxicidad aguda y subletales. *Revista de ictiología* 10 (1). Recuperado de <http://vet.unne.edu.ar>
- Hunn, J. B. (1989). *History of acute toxicity test with fish, 1863-1987- Investigations in Fish Control*. Wisconsin: LaCrosse.
- Instituto Nacional de Estadística e informática INEI. (2015). Estadísticas Ambientales Abril 2015.
- Instituto Nacional del Cancer (2010). Diagnóstico y estadificación del cáncer. Recuperado de <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/diagnostico/hoja-informativa-informes-de-patologia>.
- Jones, J.R.E. (1973). *Fish and river pollution*. London: Butterworth & Co
- Koyama H., Kitoh H., Tohyama C. (2002). Low dose exposure to cadmium. Its health effects. Genotoxicity and carcinogenicity. *Nippon Eis. Zass.*, 57 (1) p 547-555.

- Lim, C. (1997). Nutrition and feeding of tilapias. Cultivo sostenible de camarón y tilapia. IV *Simposio Centroamericano de Acuicultura*. Honduras.
- Lloyd, R. (1992). *Pollution and freshwater fish*. Oxford: Fishing News Books Ltd.,
- Mancini, M. A. (2002). Introducción a la biología de los peces. Recuperado de <http://www.infogranjas.com.ar/2017-01-25-18-57-05/229-acuicultura-1/5306-introduccion-a-la-biologia-de-los-peces>.
- Mazon, A. F., Cerqueira, C. C. C. y Fernandes, M. N. (2002). Gill cellular changes induced by cooper exposure in the South American tropical fishwater fish *Prochilodus scrofa*. *Environ. Res*, 88(1), p 52-63.
- Ministerio de la Producción PRODUCE (2014). *Manual de cultivo de tilapia*. Recuperado de http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manual_tilapia.pdf
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO (2009). *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) [Cichlidae]. Recuperado de http://www.fao.org/tempref/FI/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_niletilapia.htm
- Pérez, G. P., y Azcona C. M. (2012). Los efectos del cadmio en la salud. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 17 (03), 199-205.
- Popma, T. (1996). *Worldwide prospect for comercial production of tilapia*. Alabama: International center for aquaculture and aquatic environments. Department of fisheries and Allied Aquaculture Auburn University Alabarna.
- Ramírez, A. (2002). Toxicología del cadmio conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de la Facultad de Medicina- Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 63 (1), 51-64.

- Rangel-Zambrano, I., Salas-Auvert, R., Chavez, M., Gonzales, A., Borges, B., y Bonalde, E. (1997). Respuestas histológicas y genéticas inducidas por el cadmio en tilapia roja (pisces: Chichlidae, *Oreochromis sp*). *CIENCIA*, 3 (05), 191 - 204.
- Rengel - Zambrano, I., Salas Auvert, R., Chavez, M., Guerra, J., Márquez, R., y Urnadeta, N. (1995). Malformaciones óseas y variación de algunos elementos bioesenciales inducidas por el cadmio en tilapia roja (Pisces: Chichlidae: *Oreochromis sp*). *CIENCIA* 3 (03), 175-192.
- Sanchez, J. G., Speare, D. J. y Johnson, G. J. (1997). Morphometric Accepted: 22-06-2010 and histochemical assessment of the branchial tissue response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), associated with chloramines-T treatment. *J. Fish Dis*, 20 (1) p 375-381.
- Sawsan A., O., Mai A., Fosad, D., Dagestaní, M., Al-Olaya, E., Alamín, M., Ei-Miasma, A. (2012). Bioacumulación y toxicidad de cadmio en tilapia. *Medwell Journals*, 1601-1606.
- Solla, S. (1999). *Manual para aguas cálidas. Alimento balanceado para animales*. Colombia: Solla S.A.
- Steffens, W. (1987). *Principios fundamentales de la alimentación de los peces*. España: Acribia.
- Stellman, J. M. (2001). *Enciclopedia de Salud y seguridad en el Trabajo*. Madrid: Chantal Dufresne, BA.
- Torres, R. G., y González, P. S. (2010). Descripción Anatómica, Histológica y Ultraestructural de la branquia e hígado de tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Unidad de Microscopía Electrónica*, 28 (3), 703-712.

- Vicentini, C. A., Franceschini-Vicentini, I. B., Bombonato, M. T. S., Bertolucci, B., Lima, S. G. y Santos, A. S. (2005). Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. *Int. J. Morphol*, 23(3) p 211-216.
- Wong, K. C. y Wong, M. H. (2000). Morphological and biochemical changes in the gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. *Aquat. Toxicol.* 48 (1) p 517-27.
- Zarza, F. P. (2005). *Manual de Técnicas Básicas de Diagnóstico Patológico en Peces*. España: Universidad Autónoma de Barcelona.
- Zelikoff, J.T., Bowser, D., Squibb K. S. y Frenkel, K. (1995). Immunotoxicity of low-level cadmium exposure in fish: an alternative animal model for immunotoxicology studies. *Journey Toxicol. Environ. Health*, 45 (1), 235-248.

IX. Anexos

Anexo 1.

Los efectos del cadmio en la salud

Perla Esmeralda Pérez García, * María Isabel Azcona Cruz**

Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas, vol. 17, núm. 3, julio-septiembre, 2012, pp. 199-205. Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado México, México

El cadmio no se encuentra en el ambiente como un metal puro; es más abundante en la naturaleza en forma de óxidos complejos, sulfuros y carbonatos en el cinc, plomo y menas de cobre. Es relativamente barato, ya que se trata de un subproducto del procesamiento de metales más valiosos, como el cinc y el cobre. Sus variadas aplicaciones en la galvanoplastia, la galvanostegia y la galvanización, así como su uso en plásticos, pigmentos para crear tintes, pinturas, y cerámica, y baterías de níquel y cadmio, se deben a su gran resistencia a la corrosión y a sus propiedades electroquímicas. Los metales pesados constituyen un riesgo considerable para la salud por el contacto frecuente laboral y ambiental. Entre los más peligrosos se encuentran el plomo, el mercurio, el arsénico y el cadmio. En la población general la comida y los cigarrillos son las principales fuentes de exposición al cadmio, la cual suele ser de carácter crónico. Los efectos tóxicos del cadmio se manifiestan especialmente en los huesos y riñones y las personas que tienen bajas reservas de hierro son particularmente vulnerables a estos efectos adversos. Es de interés informar y hacer notar los efectos provocados por este metal ubicado entre los más peligrosos, según la Agencia Estadounidense para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades, así como continuar impulsando la educación para la salud con el fin de evitar la contaminación ambiental por cadmio.

Anexo 2.**Determinación de arsénico y cadmio en aguas del río Rímac y habas cultivadas en el distrito de San Mateo de Huánchor de la región de Lima**

Basualdo Larrazábal, Goannie Justo; Yacila Frías, Juan Daniel

Fecha: 2015

Resumen:

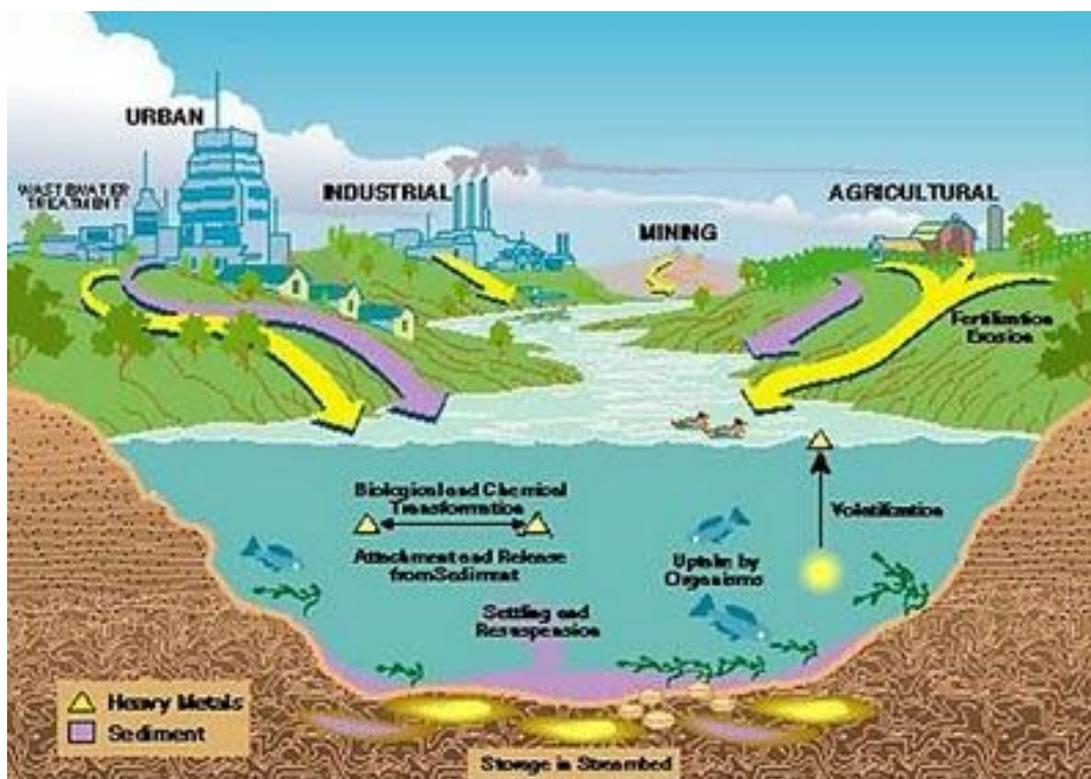
En el distrito de San Mateo de Huánchor de la Región de Lima, se determinó el grado de contaminación de arsénico (As) y cadmio (Cd) en muestras de aguas de río y habas anchas por tratarse de una zona minera que puede afectar la salud de la población. Para llevar a cabo este estudio se tomó 14 muestras de agua (7 muestras para arsénico y 7 muestras para cadmio) y 16 muestras de habas anchas (8 muestras para arsénico y 8 muestras para cadmio). La concentración media de arsénico en aguas del río Rímac (= 18,35 ppb) del distrito de San Mateo de Huánchor de la región de Lima no supera los límites máximos permisibles establecidos por los Estándares Nacionales de Calidad de Agua (ECA) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (50 ppb). La concentración media de cadmio en aguas de río Rímac del distrito de San Mateo de Huánchor de la región de Lima no fue calculada debido a que los valores no fueron detectados por la sensibilidad del equipo (4 ppb). El promedio de concentración de arsénico en habas anchas irrigadas con aguas del río Rímac del distrito de San Mateo de Huánchor de la región de Lima no fue calculado debido a que los valores no fueron detectados por la sensibilidad del equipo (5 ppb). El promedio de concentración de cadmio en habas anchas irrigadas ($x = 49,45$ ppb) con aguas del río Rímac del distrito de San Mateo de Huánchor de la región de Lima no supera el límite máximo permisible establecido por el Codex Alimentarius (100 ppb). Finalmente, se recomienda realizar

estudios de investigación en distritos cercanos a San Mateo de Huánchor dónde también existen mineras, con la finalidad de comprobar si se obtienen valores similares

Anexo 3.

Contaminación de aguas por metales pesados

La contaminación de las aguas por metales pesados, ya sean de origen natural o antropogénico requiere atención especial y estudio, ya que puede tener consecuencias negativas para la salud pública, así como la salud de los ecosistemas. Además, el agua, al ser un disolvente universal, es propensa a formar reacciones químicas con los metales pesados. Por ejemplo, puede reaccionar con óxidos metálicos formando ácidos.



El hierro, cobalto, cobre, manganeso, molibdeno y zinc son necesarios en pequeñas cantidades para los humanos, sin embargo, excesivas cantidades pueden ser nocivas. Otros metales no son requeridos por el ser humano, por lo que son tóxicos siempre: mercurio, plutonio y plomo.

Según la UE los once elementos más importantes son arsénico, cadmio, cobalto, cromo, cobre, mercurio, manganeso, níquel, plomo, estaño y talio.

Algunos de los metales pesados más perjudiciales para el medio ambiente son el mercurio, cadmio, plomo y cromo. Su toxicidad viene determinada por su estado de oxidación, el cual determina la estabilidad del elemento y su reactividad con el medio ambiente. Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , Ag^{+} y As^{3+} son formas muy estables que pueden reaccionar con biomoléculas del cuerpo humano formando biocompuestos tóxicos muy difíciles de disociar.

Las fuentes de algunos de estos metales pesados son las siguientes:

Mercurio

- Actividades mineras de extracción de oro, plata y cobre.
- Fundición primaria y secundaria de metales.
- Producción de carbón y coque.
- Combustión de combustibles y carbón en la generación de electricidad.
- Industria de cloro-sosa.
- Incineración de residuos peligrosos y biológico infecciosos.

Plomo

- Fundición primaria y secundaria de metales.
- Loza vidriada.
- Producción de pinturas.
- Elaboración de latas soldadas con plomo.
- Industria electrónica.
- Uso de gasolina con plomo

Cadmio

- Baterías Recargables de Níquel/Cadmio (Ni/Cd).
- Fertilizantes.
- Pigmentos y Estabilizadores en Plástico y PVC.
- Pigmentos en Pinturas.

- Galvanización.
- Catalizadores y Conservadores en la Industria del Plástico.
- Elaboración de Pinturas.
- Aleaciones.

Anexo 4.**Descripción Anatómica, Histológica y Ultraestructural de la Branquia e Hígado de Tilapia (*Oreochromis niloticus*)****G. A. Torres R.; **S. González P. & ***E. Peña S.**

El detrimento ambiental de las fuentes hídricas causa daños y un deterioro en la salud de los organismos expuestos a los contaminantes, principalmente especies de peces como la tilapia, de uso en la dieta humana. Consideramos que todos los esfuerzos en la investigación básica para el conocimiento de los tejidos normales en esta especie, permitirá determinar los daños causados y sus efectos por la contaminación de ambientes acuáticos, por lo cual la conservación de este medio, debe despertar gran interés y ser promovido por instituciones encargadas del manejo ambiental.

La branquia es el principal órgano blanco por contaminantes Biagini et al. (2009); su tejido epitelial es un excelente parámetro para evaluar los efectos de variables ambientales, sustancias tóxicas y calidad del agua según Verján, Iregui, Rey y Donado (2001); Mazon, Cerqueria y Fernandes (2002) y Wong y Wong (2000).

La descripción histológica como la ultraestructural de la branquia muestra la complejidad de sus tejidos y entre ellos, el epitelial cuya estructura permite el intercambio óptimo de gases y de otras sustancias. La formación de los pliegues en la mucosa y la morfología de micropliegues, con su capa de glicocáliz, son consideradas estructuras importantes en la retención de moco y son extremadamente sensible al estrés, grado de madures celular y cambios ambientales (Mazon et

Al (2002) y Wong y Wong (2000) y Ferguson, Morrison, Ostland, Lumsden y Byrne (1992) Por otra parte, las branquias han sido evaluadas como indicadores de la presencia de sustancias tóxicas, como metales, entre otras. Las lesiones tisulares observadas en las branquias de los peces constituyen una metodología reconocida y rápida para determinar los

daños Ferguson et al (1992) y Sánchez, Speare y Johnson (1997). El aneurisma, la fusión lamelar, la hiperplasia del epitelio, entre otras, son alteraciones conducentes a trastornos funcionales de las branquias y son utilizadas hoy en día como biomarcadores histopatológicos para estudios de evaluación ambiental según Verján et al (2001); Cengiz (2006). Daborn, Cozzi y Marshall (2001) estudiaron la estructura y función de las células de cloro; reportando variaciones en su morfología por cambios dados en la salinidad, acidificación, e hiperoxia; además, los autores consideran que estas células participan en procesos de aclimatación por salinidad, en respuesta a un simple estímulo osmótico, demostrando las potencialidades en estudios electrofisiológicos y de evaluación ambiental. La estructura histológica del hígado de *Oreochromis niloticus* muestra hepatocitos alineados en filas conformando cordones de forma muy similar en muchos teleósteos. Identificamos los lobulillos hepáticos, y las triadas, por lo cual discrepamos en las observaciones realizadas por Vicentini et al. (2005); sin embargo, coincidimos en la observación acinos pancreáticos asociados a ductos biliares localizados dentro del parénquima hepático identificados también por otros autores.

Ultraestructuralmente, los hepatocitos presentan características muy similares, como el alto contenido de glucógeno en su citoplasma y relativamente pobre en organelas como lo reportado por Vicentini et al. La histopatología hepática como biomarcador tiene una amplia aplicación, la presencia de lesiones inflamatorias, tóxicas hepáticas, preneoplásicas, y neoplásicas, se han convertido en una valiosa herramienta integrativa en programas de monitoreo ambiental Amaral et al. (2002) Los resultados mostrados en este trabajo apoyan la aplicación en el conocimiento de un espécimen saludable de gran interés en la dieta humana, así como en la aplicación como biomarcador histopatológico constituyen un complemento de las metodologías tradicionales en estudios de evaluación de contaminación y riesgo ambiental.

Anexo 5.**Tabla de alimentación para Tilapia****Manejo Alimentario para Tilapia**

Ram C Bhujel, PhD

Panorama Acuícola, Vol 7 n° 4, Mayo/Junio del 2002

La gran demanda de tilapia en los mercados internos e internacionales ha llevado a una mayor intensificación de los sistemas de producción y al uso de dietas específicamente balanceadas. Como en acuicultura el alimento se lleva más del 60% de los costos de producción, es importante el conocimiento de la nutrición y del manejo alimentario. Como la tilapia posee un hábito alimentario de amplio rango, y es un grupo altamente evolucionado, caracterizado por el cuidado de la progenie, los requerimientos nutricionales son algo diferentes a los de otras especies según Bhujel (2002).

Fase	Peso promedio (g)	Tasa de alimentación (%)
Precaria	2-50	10-15
Crecimiento	50-150	6-10
Engorde	150-300	1,5-3

Fuente: Manual de cultivo de Tilapia, 2010

Anexo 6.**FICHA DE INTOXICACIÓN CON CLORURO DE CADMIO**

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL

FACULTAD DE OCEANOGRAFÍA, PESQUERIA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y ACUICULTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA EN ACUICULTURA

ESPECIE: TILAPIA OREOCHROMIS NILOTICUS*ACUARIO Nro. Fecha de inicio: Fecha de término:***I. AGUA**

- LITROS:

.....

- TEMPERATURA:

.....

- DIAS DE RECAMBIO:

.....

- OTROS:

.....

II. CLORURO DE CADMIO

- CONCENTRACIÓN:

.....

- DILUCION:

- DIAS DE INTOXICACIÓN:

.....

III. PECES

- CANTIDAD:

-
• EDAD:
.....
- TIPO DE ALIMENTACION:
.....
- OBSERVACION EXTERNA:
.....
.....
.....
.....

Anexo 7**FICHA DE OBSERVACIÓN HISTOPATOLOGICA**

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL

FACULTAD DE OCEANOGRAFÍA, PESQUERIA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y ACUICULTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA EN ACUICULTURA

Lamina Nro. *Fecha de lectura:***ESPECIE: TILAPIA OREOCHROMIS NILOTICUS****Tipo de tejido:**

- I. HEPATO PANCREAS** ()
- II. BAZO** ()
- III. RIÑON** ()
- IV. MUSCULOS** ()
- V. RIÑON** ()

Descripción macroscópica:

Color :

Textura :

Tamaño :

.....

Irritación :

.....

Mucus :

Peso :

Descripción microscópica: Cómo se ve la muestra en el microscopio y cómo se compara con las células normales.

.....

.....

Diagnóstico:

Tamaño: en centímetros

Márgenes del tumor:

Márgenes positivos:

Márgenes negativos:

Márgenes cercanos:

Otro tipo de información:

Anexo 8.**COLORACION DE HEMATOXILINA –EOSINA (H&E)**

CÉSAR EDUARDO MONTALVO ARENAS

Agosto de 2010.

La coloración de hematoxilina - eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico.

Consiste en la tinción de:

- a) los núcleos mediante una hematoxilina, previamente oxidada y transformada en hemateína a la que se le añade una sustancia mordiente para formar una laca (para tal fin se usan sales metálicas de aluminio, plomo o fierro). Los núcleos se colorean de azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro, dependiendo de los agentes oxidantes y mordientes que se utilizaron.
- b) el citoplasma y material extracelular utilizando la eosina que les confiere diversos grados de color rosado.

Este procedimiento consiste en colocar encima del corte coloreado y diafanizado una gota de una sustancia adherente, diluida, generalmente en xilol (resina natural como el bálsamo de Canadá o resinas sintéticas, cuyos índices de refracción son similares a los del vidrio) y encima de ellos, una laminilla cubreobjetos, cuidando que no queden burbujas de aire entre la resina.

A continuación se deja que el xilol se evapore, y la resina adquiera solidez suficiente; para ello las láminas se colocan en una platina caliente (45o 50o C) durante 24 a 48 horas y estarán listas para ser observadas.