



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN BIOLOGÍA

**EFFECTOS DE LOS MICROPLÁSTICOS EN LA FISIOLÓGÍA DIGESTIVA DE
*Oreochromis sp***

ELABORADA POR
ANA PATRICIA SAMUDIO MIRANDA
CED. 4 – 750 – 1756

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO ANTE LA COMISIÓN
EVALUADORA DE TESIS
PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MAESTRÍA EN BIOLOGÍA

COMISIÓN EVALUADORA DE TESIS

ASESOR: ÓSCAR MARTÍNEZ PH.D
LECTOR: ADAIR QUIRÓZ
LECTOR: DIANA GONZÁLEZ

REPÚBLICA DE PANAMÁ
2025

HOJA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

La Tesis titulada: “Efectos de los Microplásticos en la Fisiología Digestiva de *Oreochromis* sp.”, presentada por la estudiante Ana Patricia Samudio Miranda con cédula de identidad personal No. 4 – 750 – 1756; fue aprobada por la Comisión Evaluadora de Tesis, designada por la Comisión Académica de la Maestría en Biología, según lo establece el Reglamento de Estudios de Posgrado Vigente en la Universidad Autónoma de Chiriquí.

Dan fe de esta aprobación los abajo firmantes:

Óscar Martínez PH.D

Asesor

Diana González

Lector (a)

Adair Quiróz

Lector (a)

Luis M. Vargas J.

Coordinador del Programa
de Maestría en Biología, UNACHI

Ana Patricia Samudio Miranda

Tesista

DECLARACIÓN JURADA DEL TESISISTA

El abajo firmante, Ana Patricia Samudio Miranda, con cédula de identidad personal No. 4 – 750 – 1756; tesista del Programa de Maestría en Biología de la Universidad Autónoma de Chiriquí, declara que:

En la elaboración de la tesis titulada “Efectos de los Microplásticos en la Fisiología Digestiva de *Oreochromis* sp.”:

- a. No se recibió financiamiento de instituciones públicas o privadas, por lo que todos los gastos realizados corrieron a cargo del autor
- b. No se adquirió compromiso con instituciones públicas o privadas para ofrecer los resultados de esta tesis a cambio de algún tipo de remuneración económica, material o laboral
- c. No hay intereses personales de tipo económico, material o laboral que desviaran la realización e interpretación de los resultados obtenidos en esta tesis
- d. La información presentada en esta tesis es responsabilidad del autor.

Firmado el día 9 de abril de 2025, por:

Ana Patricia Samudio Miranda
4 – 750 – 1756

Certificado de Turnitin



Universidad Autónoma de Chiriquí
Vicerrectoría Académica
Sistema de Bibliotecas e Información
Certificado de originalidad



Fecha: 22/4/25

Facultad: Facultad de Ciencias Naturales y Exactas.

Programa de Maestría en Biología.

Se certifica que, tras llevar a cabo el proceso de análisis de originalidad y detección de similitudes en el trabajo de investigación titulado **"EFECTOS DE LOS MICROPLÁSTICOS EN LA FISIOLÓGIA DIGESTIVA DE Oreochromis sp"**, presentado por el/la estudiante **ANA PATRICIA SAMUDIO MIRANDA**, con número de cédula N.º **4-750-1756**, con la asesoría del profesor **ÓSCAR MARTÍNEZ PH.D.** el trabajo cumple con el **100%** de originalidad, de acuerdo con el informe emitido por el profesor asesor.

Es importante señalar que el proceso de análisis de plagio se ha realizado utilizando la herramienta Turnitin y siguiendo procedimientos estandarizados para asegurar la precisión de los resultados.

Nota: El uso de la herramienta Turnitin fue aprobada por el Consejo Académico #5 - Sesión extraordinaria - 22 de mayo de 2023 y modificada el 6 de octubre de 2023

Eibar Amaya
Responsable de
departamentco



Ada Chávez
Directora del
SIBIUNACHI

Agradecimiento

Al doctor Oscar Martínez, por su vasto conocimiento, dedicación docente, y su inestimable guía que han sido pilares fundamentales en la dirección y enriquecimiento de esta investigación.

También a la doctora Diana González, magister Adair Quiroz y al doctor Luis Vargas, coordinador de maestría de Biología, por sus observaciones y constructivos comentarios.

Con aprecio a los licenciados asistentes y colaboradores de laboratorios, Oscar Pinzón, José Rodríguez y Nicomedes Jaramillo, quienes proporcionaron los espacios y equipos requeridos para esta investigación.

Con amor, a mi madre, por su apoyo incondicional. Igualmente, a mi madrina, que de una u otra forma colaboró en el desarrollo de esta investigación, mi más profundo agradecimiento, por su invaluable contribución en este viaje académico.

Dedicatoria

A mi amada madre, Ana Cecilia Miranda Acosta, y a mi madrina, María del Carmen Miranda Acosta, quienes durante de sus vidas me han inculcado la cultura del trabajo y estudio. Su dedicación y esfuerzo inquebrantable para asegurarme una excelente educación, son un obsequio que valoro más allá de las palabras. Esta tesis representa un homenaje a su sacrificio y amor, así como un recordatorio permanente de la relevancia del esfuerzo y la educación en nuestras vidas.

Esta tesis es un tributo a su legado y a la eterna admiración que siento por ustedes.

Gracias.

Índice de Tablas

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1. Comparación de mediciones de parámetro hematológico (glucosa) por pecera control, experimentos y muestreos | 31 |
| Tabla 2. Comparación de mediciones de parámetro hematológico (hemoglobina) por pecera control, experimentos y muestreos | 32 |
| Tabla 3. Comparación de mediciones de parámetro hematológico (colesterol) por pecera control, experimentos y muestreos | 33 |
| Tabla 4. Promedios de Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control | 34 |
| Tabla 5. Comparación de mediciones de datos biométricos (peso) por pecera control, experimentos y muestreos | 35 |
| Tabla 6. Comparación de mediciones de datos biométricos (longitud total) por pecera control, experimentos y muestreos | 36 |
| Tabla 7. Ganancia de Peso y LT en Porcentaje (%) | 37 |
| Tabla 8. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales | 37 |
| Tabla 9. Actividad In Vitro de la Proteasa Ácida Total (estómago) | 38 |
| Tabla 10. Actividad In Vitro de la Proteasa Alcalina Total (intestino) | 38 |
| Tabla 11. Datos generales de disección de peces y conteo de MP encontrado | 39 |
| Tabla 12. Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control (Muestreo 1) | 61 |
| Tabla 13. Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control (Muestreo 2) | 62 |
| Tabla 14. Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control (Muestreo 3) | 63 |
| Tabla 15. Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control (Muestreo 4) | 64 |
| Tabla 16. Datos Biométricos de muestras experimentales y control (Muestreo 1) | 65 |
| Tabla 17. Datos Biométricos de muestras experimentales y control (Muestreo 2) | 66 |
| Tabla 18. Datos Biométricos de muestras experimentales y control (Muestreo 3) | 67 |
| Tabla 19. Datos Biométricos de muestras experimentales y control (Muestreo 4) | 68 |

Índice de Figuras

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Ciclo de entrada y distribución de plásticos en el medio marino (Fuente: Eunomia) | 14 |
| Figura 2. Producción mundial de plásticos (Fuente: PlasticsEurope, 2015) | 14 |
| Figura 3. Demanda de materiales plásticos en el continente europeo (Fuente: PlasticsEurope) | 15 |
| Figura 4. Resultados de modelos de densidad mundial de partículas plásticas (piezas por kilómetro cuadrado, ver barra de colores) en cuatro categorías de tamaño (0,33-1,00 mm, 1,01-4,75 mm, 4,76-200 mm y > 200 mm). | 16 |
| Figura 5. Vías de degradación de polímeros sintéticos en el medio acuático con procesos de degradación involucrados y pasos intermedios hasta la mineralización completa. Fuente: Modificado por Sánchez & tomado de Klein et al., 2018. | 17 |
| Figura 6. Resumen de metodología para determinar los Efectos de los Microplásticos en la Anatomía y Fisiología Digestiva de <i>Oreochromis</i> sp | 25 |
| Figura 7. Mediciones de glucosa en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2 c. Muestreo 3 d. Muestreo 4 | 39 |
| Figura 8. Mediciones de glucosa (mg/dL) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3 | 40 |
| Figura 9. Mediciones de hemoglobina en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2 c. Muestreo 3 d. Muestreo 4 | 41 |
| Figura 10. Mediciones de hemoglobina (g/dL) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3 | 42 |
| Figura 11. Mediciones de colesterol en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2 c. Muestreo 3 d. Muestreo 4 | 43 |
| Figura 12. Mediciones de hemoglobina (g/dL) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3 | 44 |
| Figura 13. Medidas (promedios) de muestras hematológicas del control y experimentos MP, a. glucosa, b. hemoglobina, c. colesterol. | 45 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 14. Mediciones de peso (g) en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2 c. Muestreo 3 d. Muestreo 4 | 46 |
| Figura 15. Mediciones de peso (g) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3 | 47 |
| Figura 16. Mediciones de Longitud Total en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2 c. Muestreo 3 d. Muestreo 4 | 48 |
| Figura 17. Mediciones de longitud total (cm) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3 | 49 |
| Figura 18. Ganancia en Porcentaje (%), a. peso, b. LT | 50 |
| Figura 19. Lesiones en el tegumento de los peces (<i>Oreochromis</i>) | 51 |
| Figura 20. Microplástico en estómago de peces (<i>Oreochromis</i>). Vista al estereoscopio. | 53 |
| Figura 22. Toma de medidas de longitud estándar (LT) | 69 |
| Figura 21. Mediciones de Micropartículas de plástico (medidos en microscopio euromex holland). | 69 |
| Figura 24. Toma de muestras hematológicas de vena caudal y mediciones | 70 |
| Figura 23. Preparación de extractos (enzimas) de estómagos e intestinos utilizando un mezclador de dispersión emulsionante de homogeneizador [Yeipower Homogenizador de alta velocidad 1000 ~ 22000 rpm 5 ~ 33.8 fl oz FSH-2C Versión actualizada (110V)] | 70 |
| Figura 25. Proceso de aclimatación de peces | 71 |
| Figura 26. Preparación de sustancias para la actividad proteasa | 71 |
| Figura 27. Preparación de eppendorf para las actividades proteasas alcalinas y ácidas totales | 72 |

Índice General

| | |
|------------------------------------------------------------------------|------|
| Hoja de aprobación del tribunal examinador | ii |
| Declaración jurada del tesista | iii |
| Certificado de turnitin | iv |
| Agradecimiento | v |
| Dedicatoria | vi |
| Índice de tablas | vii |
| Índice de figuras | viii |
| Resumen | 1 |
| Abstract | 2 |
| Introducción | 3 |
| 1. Aspectos generales | 5 |
| 1.1 Antecedentes del problema | 5 |
| 1.2 Situación actual o estado actual del problema | 8 |
| 1.2.1 Planteamiento del problema | 9 |
| 1.3 Supuesto general o hipótesis | 9 |
| 1.4 Objetivos | 10 |
| 1.4.1 General | 10 |
| 1.4.2 Específicos | 10 |
| 1.5 Delimitación, alcance o cobertura | 10 |
| 1.6 Restricciones y/o limitaciones | 10 |
| 2. Fundamentación teórica (revisión general) | 12 |
| 3. Metodología | 20 |
| A. Trabajo de Campo – <i>In Vivo</i> | 20 |
| A.1 Establecimiento de peceras | 20 |
| A.2 Siembra y Aclimatación de peces juveniles de <i>Oreochromis</i> sp | 20 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| A.3 Preparación del Microplástico | 20 |
| A.4 Cultivo de <i>Oreochromis</i> sp (Fase de Experimento <i>In Vivo</i>) | 21 |
| A.5 Monitoreo de <i>Oreochromis</i> sp | 21 |
| A.6 Sedación y Sacrificio de Peces | 21 |
| B. Trabajo de laboratorio | 22 |
| B.1 Análisis de muestras de <i>Oreochromis</i> sp | 22 |
| C. Trabajo de laboratorio – <i>In Vitro</i> | 22 |
| C.1 Actividad Enzimática según la concentración de plástico | 22 |
| D. Trabajo de gabinete | 24 |
| 3.1 Tipo de investigación | 25 |
| 3.1.1 Justificación | 25 |
| 3.2 Variables o categorías de la investigación | 26 |
| 3.2.1 Operacional (operacionalización de las variables) | 26 |
| 3.3 Validez y confiabilidad (programas informáticos de análisis) | 28 |
| 3.4 Población | 28 |
| 3.4.1 Muestra | 29 |
| 3.4.2 Tipo de muestreo (s) | 29 |
| 3.5 Métodos e instrumentos de investigación | 29 |
| 4. Análisis e interpretación de los resultados | 30 |
| 5. Conclusiones | 54 |
| 6. Recomendaciones | 55 |
| 7. Referencias | 56 |
| 8. Anexos | 61 |

Resumen

Los microplásticos constituyen contaminantes que pueden ser transferidos a través de la cadena trófica, alcanzando eventualmente al ser humano. Desde la década de 1950, la producción de polímeros ha experimentado un crecimiento exponencial, con un aumento en la demanda que pasó de 1.3 a 322 millones de toneladas de polímeros en el año 2015 a nivel global. A nivel mundial, se han llevado a cabo investigaciones que registran la composición de los microplásticos. Sin embargo, no está claro el impacto que puede causar el consumo de microplásticos en la fisiología digestiva de los peces. Es fundamental llevar a cabo un seguimiento de las partículas de microplásticos en un entorno controlado con ejemplares de *Oreochromis* sp. El propósito de la investigación fue establecer el impacto de la ingesta de microplásticos en la fisiología digestiva de *Oreochromis* sp. En este estudio, se utilizaron cuatro grupos de peces (con 8 individuos de 25 g) en cultivos controlados, donde tres grupos se someten a la ingesta 1.75 g MP / L diariamente y se mantiene el cuarto grupo como control. Se obtuvieron datos biométricos y muestras estomacales e intestinales de los peces, para realizar digestiones *In Vitro*, y determinar el efecto de los microplásticos en las actividades enzimáticas de *Oreochromis* sp. Se espera que los resultados obtenidos, tengan un impacto en diversos sectores como la acuicultura, biología, fisiología, sector salud, entre otros, por ende, al aportar datos fiables sobre los efectos que causen los microplásticos en los procesos digestivos de peces de importancia en la acuicultura. Los peces son un eslabón en la cadena alimenticia de los humanos, por consiguiente, se prevé que los resultados obtenidos en *Oreochromis* sp (daños, alteraciones, entre otras) puedan posteriormente estudiarse en los seres humanos. Los resultados muestran un alto consumo de microplástico <20mm por *Oreochromis* sp. Los niveles de glucosa plasmática en los grupos tratados, muestran un leve descenso versus el grupo control. Este consumo de partículas no nutricionales puede estar causando pérdidas en variables biométricas, así como enfermedades crónicas a nivel tegumentario. Las micropartículas de plástico se encontraron a nivel estomacal, sin embargo en los intestinos no fueron observadas.

Abstract

Microplastics are contaminants that can be transferred through the food chain, eventually reaching humans. Since the 1950s, polymer production has experienced exponential growth, with demand increasing from 1.3 to 322 million tons of polymers in 2015 globally. Research has been conducted worldwide to record the composition of microplastics. However, the impact that microplastic consumption may have on the digestive physiology of fish is unclear. It is essential to monitor microplastic particles in a controlled environment with *Oreochromis* sp. The purpose of the research was to establish the impact of microplastic ingestion on the digestive physiology of *Oreochromis* sp. In this study, four groups of fish (with 8 individuals of 25 g) were used in controlled cultures, where three groups were subjected to the intake of 1.75 g MP / L daily and the fourth group was maintained as a control. Biometric data and stomach and intestinal samples of the fish were obtained, to perform in vitro digestions, and determine the effect of microplastics on the enzymatic activities of *Oreochromis* sp. It is expected that the results obtained will have an impact in various sectors such as aquaculture, biology, physiology, health sector, among others, therefore, by providing reliable data on the effects caused by microplastics in the digestive processes of fish of importance in aquaculture. Fish are a link in the human food chain, therefore, it is expected that the results obtained in *Oreochromis* sp (damage, alterations, among others) can later be studied in humans. The results show a high consumption of microplastic <20mm by *Oreochromis* sp. Plasma glucose levels in the treated groups showed a slight decrease compared to the control group. This consumption of non-nutritional particles may be causing losses in biometric variables, as well as chronic diseases at the tegumentary level. Plastic microparticles were found in the stomach, however they were not observed in the intestines.

Introducción

La contaminación de desechos plásticos que existe actualmente en nuestros océanos es un problema que va en crecimiento, ya que en los últimos años la producción de polietileno se ha incrementado y esta es desechada a los océanos y cuerpos de agua afectando a las especies marinas. (Álvarez et al., 2020). Tal como precisa (Santos et al., 2020) que desde el año 1950 la producción de plásticos a nivel mundial ha aumentado con gran rapidez de 5 millones de toneladas a 300 millones de toneladas al año.

En los estudios realizados hay una clara evidencia de la presencia de microplásticos en los peces pelágicos como bentónicos, las micropartículas que están almacenadas en sus estómagos, se llegan a bioacumular afectando así a sus depredadores más grandes esto incluye a los seres humanos (López et al., 2022), la distribución de los microplásticos en los ecosistemas acuáticos dependen mucho de la densidad que tengan, tamaño y forma, estas llegan a ser consumidas por los peces por las mismas características que poseen (James et al., 2022).

Según (Piyawardhana et al., 2022) menciona que los microplásticos son ubicuos, tóxicos y que persisten en el ambiente marino, estos son considerados un potencial contaminante emergente, difícil de eliminar debido a su composición, (Solino et al., 2022) señala que los microplásticos están introduciéndose al mar a través de la descomposición o directamente desde la tierra debido a la escorrentías superficiales.

A los microplásticos se les ha atribuido distintos tamaños como partículas antropogénicas que miden menos de 5mm de diámetro estos a su vez se subdividen en dos categorías; microplásticos primarios que se fabrican para tener un tamaño microscópico, como los plásticos que se encuentran en los limpiadores de piel y el microplásticos secundario (Castañeta et al., 2020): como consecuencia de la descomposición de desechos plásticos más grandes por degradación, debido al tamaño que poseen los microplásticos son propensos a ser consumidos por los peces (De la torres, Apaza y Santillán et al., 2020).

La presencia de microplásticos (MP) es un problema grave debido a la contaminación que esta genera en las especies acuáticas, ya que se encuentran en la superficie como en el fondo de los océanos y en las orillas estos por el mismo tamaño que poseen y su baja densidad facilitan su transporte y estas permanecen por varios años en el ambiente acuático como terrestre, (Oliva et al. 2021).

1. ASPECTOS GENERALES

1.1 Antecedentes del problema

El rango de tamaños atribuido a los microplásticos ha variado ampliamente según los distintos estudios, en los cuales se consideraban microplásticos aquellas partículas con diámetro < 10 mm, o < 5 mm (Barnes et al., 2009), entre 2-6 mm (Derraik, 2002), < 2 mm y < 1 mm (Fossi et al., 2016).

La ingestión de plástico por organismos marinos es menos evidente que los atrapamientos descritos en el apartado anterior; sin embargo, también ha sido documentada ampliamente, por ejemplo, en la revisión de Laist (1997). Los desechos marinos, especialmente los plásticos, son frecuentemente confundidos con alimento, lo que provoca trastornos gastrointestinales y altera diversas funciones biológicas, incluida la reproducción, entre otras. Históricamente, los mamíferos marinos, las tortugas y las aves marinas han sido los indicadores más evidentes de estas problemáticas, aunque el espectro de organismos afectados se ha ampliado considerablemente, abarcando especies de peces, invertebrados e incluso pequeños copépodos. De acuerdo con un estudio reciente realizado por Rojo (2017), el número de especies de aves, tortugas y mamíferos marinos impactados ha aumentado de 143 (33%) a 233 (44%) casos. En particular, en el caso de las aves, la presencia de plásticos en las colonias de aves marinas y costeras, así como su ingestión, ha ido en aumento. Uno de los primeros registros de esta ingestión se remonta a 1962, cuando un paño boreal en Terranova fue documentado. La primera tortuga conocida con plástico fue reportada en 1968, y la primera ballena en 1979. Aunque menos evidente, el caso de los peces también ha sido documentado desde 1972, según Rojo (2017). En la actualidad, se han registrado casos de ingestión de macroplásticos en una amplia variedad de organismos, que incluyen cetáceos dentados como los zifios, delfines y cachalotes, así como algunas especies de peces de interés comercial, como el arenque, la caballa, los atunes del Mediterráneo y el bacalao del Atlántico.

La estrategia alimentaria se presenta como un elemento fundamental para comprender la tendencia de una especie a consumir más o menos plástico. Un estudio que examinó la ingestión de plástico en diversas especies de aves marinas reveló que las aves buceadoras

tienen la mayor probabilidad de ingerir plástico, seguidas por aquellas que obtienen su alimento de la superficie del océano. En contraste, las especies que se alimentan de crustáceos o cefalópodos tienden a consumir más plástico que las piscívoras, mientras que las aves omnívoras son más propensas a confundir el plástico con su alimento. Además, se observaron variaciones en el contenido estomacal y la cantidad de plástico ingerido entre diferentes especies de albatros, lo que se atribuye a sus distintos hábitos alimenticios y a las áreas donde capturan sus presas.

Esta falta de definición de los tipos y tamaños del microplástico ha generado dificultades al momento de realizar comparaciones de datos relacionados con estos. Por ese motivo Andrady (2011) sugirió añadir el término “mesoplástico” para diferenciar los pequeños plásticos que eran visibles a simple vista de los microplásticos, que solo podían visualizarse con el microscopio.

En el ámbito de los microplásticos, es posible diferenciar entre los microplásticos primarios y los microplásticos secundarios. Los primarios son aquellos que ya han sido fabricados para ser de un tamaño microscópico, como por ejemplo los que se encuentran en productos de limpieza o de cosmética (Cole et al., 2011). Por otra parte, los microplásticos secundarios son aquellos plásticos de pequeño tamaño que derivan principalmente de la fragmentación de macrolásticos tanto en el mar como en la tierra (Barnes et al., 2009).

La problemática de los microplásticos en el ecosistema marino ha sido objeto de numerosos estudios que evidencian su ingesta por diversas especies. Estos contaminantes, al tener un tamaño similar al del zooplancton, son susceptibles de ser ingeridos directamente durante la depredación por especies como los peces. Además, organismos que filtran el agua, como los cetáceos misticetos y los bivalvos, pueden también incorporar microplásticos de manera indirecta en su alimentación. Asimismo, la ingestión de microplásticos y de presas contaminadas genera la bioacumulación de toxinas químicas en organismos filtradores y depredadores. La mayoría de los microplásticos contienen un compuesto químico denominado PBT (Polibutilenotereftalato), que tiene una baja solubilidad en agua de mar y por lo tanto, tiende a concentrarse en la superficie donde puede ser absorbida por filtración y bioacumularse en los organismos (Fossi et al., 2016).

El estudio de Boerger et al. (2010), basado en el análisis del contenido estomacal de 670 peces pertenecientes a cinco especies mesopelágicas (viven entre los 200-1000 m de profundidad) y una epipelágica (vive entre la superficie y los 200 m), confirmó la ingesta de microplásticos por parte de los peces y estimó la cantidad de plástico ingerida en 1375 piezas.

Lönnstedt y Eklöv (2016) llevaron a cabo un estudio experimental que evidenció que la ingestión de microplásticos, es decir, partículas de plástico de menos de 5 milímetros, por las larvas de peces puede generar complicaciones en su capacidad reproductiva y representar un riesgo para su supervivencia. Tanaka et al. (2013) también demostró el impacto de estos contaminantes en aves marinas ya que analizó el contenido estomacal de diferentes especies y encontró partículas de plástico en todas ellas.

Asimismo, los organismos filtradores, tales como los bivalvos, se ven impactados. En una investigación realizada por Li et al. (2015), se estudió la cantidad y las clases de microplásticos en nueve especies de bivalvos que tienen un alto volumen de comercialización en Shanghái, China. Los resultados revelaron que los bivalvos presentaban concentraciones significativas de contaminantes, lo que resalta la importancia de regular los microplásticos en los mariscos, ya que constituyen un riesgo para la salud de las personas.

Un estudio reciente (Hall et al. 2015) también ha demostrado que los corales se alimentan de manera indirecta o directa de microplásticos, aunque, no han podido demostrar cómo estos microplásticos afectan al crecimiento de los corales.

Lusher et al. (2015) llevó a cabo el primer estudio enfocado en la identificación de microplásticos en el sistema digestivo de cetáceos. Este análisis se centró en zifios (*Ziphius cavirostris*) que habían varado en las costas del norte y oeste de Irlanda, encontrando que la mayoría de los microplásticos detectados eran de polietileno. Al tratarse del primer estudio de este tipo, no fue posible realizar comparaciones con investigaciones previas; sin embargo, se confirmó que los cetáceos ingieren microplásticos, ya sea directamente del agua o de manera indirecta al alimentarse de pequeños peces.

La ingestión de plástico, ya sea de forma intencionada o accidental, puede ocasionar la muerte de manera inmediata a través de la obstrucción física del estómago. Además, puede influir en los organismos mediante diversas disfunciones estomacales, incluyendo efectos químicos asociados. Los fragmentos de plástico no necesitan ser excesivamente grandes para causar daños; la orientación de estos y el tipo de daño que producen son aspectos fundamentales a considerar. Por ejemplo, en un estudio de *Brandao et al* (2011) se documenta la muerte de un pingüino por perforación de la pared del estómago al ingerir una pajita. No es imprescindible que se produzca una obstrucción completa del estómago; basta con experimentar una sensación de saciedad para inhibir el deseo de alimentarse, lo que puede llevar a una carencia de nutrientes y, en última instancia, a la muerte indirecta del organismo.

De manera similar, la ingestión de fragmentos de plástico, como los que se encuentran en las bolsas, puede obstruir parte de la superficie destinada a la absorción de nutrientes en el estómago, lo que podría comprometer la eficacia nutricional o provocar la formación de úlceras. En resumen, la presencia de plástico en el estómago, aunque no cause una muerte inmediata en el animal, puede inducir una sensación de saciedad que inhibe el instinto de alimentarse y la búsqueda de alimento, es decir, se busca conocer el efecto que genera el consumo excesivo de microplástico, donde podría causar desnutrición en los peces silvestres.

1.2 Situación Actual o estado actual del problema

Los microplásticos pueden impactar de manera adversa la salud de las especies de peces. Estos diminutos fragmentos de plástico pueden ser ingeridos por los peces a través de la alimentación, y se ha observado que pueden acumularse en el tracto digestivo.

La detección de microplásticos en el tracto gastrointestinal de los peces puede causar diversos efectos adversos, como inflamación, daño en los tejidos y alteraciones en la absorción de nutrientes. Además, se ha observado que los microplásticos tienen la capacidad de funcionar como transportadores de sustancias químicas contaminantes, ya que pueden absorber y transportar sustancias tóxicas.

Es fundamental señalar que la intensidad de los impactos de los microplásticos en los peces puede fluctuar en función de varios factores, como el tipo y tamaño de los microplásticos, la especie de pez y las condiciones ambientales.

1.2.1 Planteamiento del problema

Se han registrado casos de consumo de microplásticos en diversas especies de fauna acuática en múltiples hábitats, que incluyen la superficie marina, la columna de agua, el bentos, los estuarios, las playas y las instalaciones de acuicultura. Se ha documentado que más de 220 especies diferentes ingieren microplásticos en condiciones naturales. Excluyendo aves, tortugas y mamíferos, el 55 por ciento de estas especies, que abarcan desde invertebrados hasta peces, son de importancia comercial. Los efectos perjudiciales de la ingestión de microplásticos han sido observados en organismos acuáticos en entornos de laboratorio, donde generalmente se les expone a concentraciones mucho más elevadas que las que se encuentran en el medio ambiente. En estas condiciones y ante una exposición crónica, se ha evidenciado que los microplásticos afectan de manera negativa la fecundidad, la supervivencia larval y el desarrollo adecuado de los organismos estudiados. Sin embargo, se conoce poco sobre cómo los microplásticos pueden alterar los procesos ecológicos y acumularse a través de la transferencia trófica en condiciones naturales, así como los efectos que estos pueden tener en la fisiología digestiva y endocrinológica de los peces.

Se desconoce los efectos que tienen estos microplásticos en las acciones enzimáticas y en los procesos de absorción de nutrientes, así como los efectos astringentes que tienen sobre el epitelio intestinal.

1.3 Supuesto General o Hipótesis

La ingestión de alimento manipulado con microplásticos, causa efectos significativos en la fisiología digestiva de *Oreochromis* sp.

1.4 Objetivos

1.4.1 General

- Determinar el efecto provocado por la ingesta de microplásticos en la anatomía y fisiología digestiva de *Oreochromis* sp.

1.4.2 Específicos

- Colectar y analizar datos biométricos de *Oreochromis* sp durante el periodo de estudio.
- Observar afectaciones anatómicas y fisiológicas de *Oreochromis* sp, tras la ingesta de microplásticos.
- Determinar mediante digestión in vitro el efecto de los microplásticos en las actividades enzimáticas de *Oreochromis* sp frente a la presencia de microplásticos.

1.5 Delimitación, Alcance o Cobertura.

Los animales se ven afectados por la ingestión de grandes cantidades de plástico, el cual no es capaz de ser procesado por su sistema digestivo, ocasionando así daños internos, bloqueos intestinales y, en ocasiones, la muerte. Las toxinas del plástico consumido tienen efectos perjudiciales sobre la reproducción y afectan negativamente el sistema inmunológico. Es por ello de gran importancia realizar estudios en ambientes controlados, para observar con mayor detalle de las posibles afectaciones a nivel de organismo; el cual forma parte de la cadena alimenticia, es por ello que el motivo de estudio con *Oreochromis* sp, se realizará para obtener datos fiables sobre los efectos o daños que los microplásticos causan en la fisiología digestiva. Al obtener los datos de la investigación podremos realizar un gran aporte de cómo afectan realmente los plásticos que se degradan en nuestro mares, ríos, lagos, entre otros.

1.6 Restricciones y/o Limitaciones.

Un factor restrictivo significativo es la falta de información sobre medidas esenciales, como el peso y el tamaño de los microplásticos en los ambientes naturales, así como la variabilidad en la calidad de los datos, lo que limita la capacidad de efectuar comparaciones. Existe una inquietud generalizada en torno a la recopilación de datos, son

los grandes decesos que se observan a diario en la fauna marina, debido a la gran contaminación por plásticos. Es evidente que el grado de incertidumbre se eleva con cada conjetura y extrapolación, lo que subraya la importancia de realizar investigaciones más profundas y de recolectar datos que permitan verificar los efectos sobre los peces y, en consecuencia, sobre la salud humana.

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA (revisión general)

La contaminación acuática ocasionada por microplásticos se está transformando en uno de los desafíos ambientales más preocupantes que enfrentamos en múltiples lugares del planeta. La presencia masiva de este tipo de residuos en ríos, lagos y mares se debe tanto a la fragmentación en el agua de plásticos de gran tamaño como al vertido de productos o sustancias (desde detergentes hasta cosméticos) que contienen micropartículas plásticas (Lönnstedt, 2016).

Una gran parte de la investigación realizada en los últimos años se ha centrado en medir la cantidad de microplásticos presentes, especialmente en los océanos; sin embargo, se tiene un conocimiento limitado acerca de su impacto real en los ecosistemas, así como en la fauna y la flora.

El plástico, conocido también como polímero, se ha convertido en un material fundamental para la economía de los países, dado que su uso se ha integrado en la vida diaria de las personas. Este material se encuentra en una amplia variedad de productos de consumo personal, tales como prendas de vestir, utensilios de cocina, mobiliario, así como en aplicaciones en construcción, transporte, comunicación y agricultura, entre otros. Desde 1950 la fabricación de polímeros aumentó de forma exponencial por su ligereza, durabilidad, resistencia a la corrosión, maleabilidad y, sobre todo, por ser económicos (Góngora, 2014).

Con el crecimiento de la población y su traslado a las ciudades a partir de la segunda guerra mundial, hubo un incremento en la demanda desde 1.3 a 322 millones de toneladas de polímeros para el 2015 en el mundo (PlasticEurope, 2004). Paralelamente hubo un incremento de la cantidad de basura, la cual al ser incorrectamente gestionada aumenta su presencia en hábitats terrestres y principalmente acuáticos, originando altos niveles de contaminación (Jambeck et al., 2015).

La presencia de polímeros en costas, océanos y cuerpos de agua dulce provoca su fragmentación en trozos más pequeños, un proceso que es impulsado por diversos factores

químicos, biológicos y físicos. Estas partículas se denominan microplásticos y llegan a medir hasta cinco milímetros de longitud (Thompson, 2004). En las últimas décadas, la contaminación por partículas ha adquirido un carácter alarmante, ya que estas son asimiladas por la biota del entorno. Esto resulta en obstrucciones en el tracto digestivo, una sensación de saciedad y daños en los tejidos, lo que limita la ingesta de alimento y disminuye la movilidad, haciendo que estos organismos sean más vulnerables a los depredadores. Esta problemática puede tener consecuencias económicas significativas para la acuicultura, pesca y turismo e impactos negativos en la economía. Además, hasta el momento la tecnología existente para retirar microplásticos es escasa, ineficiente y costosa (Cole et al., 2011; Li et al., 2016; Nieto & Montoto, 2017).

Con respecto a las implicaciones, los microplásticos contienen diversas sustancias químicas que son integradas en su proceso de producción, incluyendo plastificantes, antioxidantes, retardantes de llama y colorantes. Estas sustancias funcionan como vectores para otros contaminantes que son bioacumulables y tóxicos, lo que puede llevar a disrupciones en el sistema endocrino, mutaciones genéticas y carcinogénesis. Los contaminantes antes referidos son: metales pesados (cobre, zinc, plomo), contaminantes orgánicos persistentes (COPs) y plaguicidas (DDT) (Wright et al., 2013; Lie et al., 2016; Pinto de Costa et al., 2016).

Producción y Consumo de Microplástico

La localización de las principales fuentes y el destino de los plásticos en el ecosistema marino representa un desafío significativo y los países que han llevado a cabo trabajos sobre este particular no han hecho un enfoque homogéneo. Un análisis llevado a cabo por EUNOMIA determina que más del 80% de los plásticos que contaminan los océanos tiene su origen en fuentes terrestres.

En el mismo estudio se indica que el 94% del plástico que ingresa a los océanos se deposita en el lecho marino, donde se calcula que hay una presencia de 70 kg/km². Solo un 1% de los plásticos se encuentra en la superficie o flotando, con una concentración media total que no supera 1 kg/km. En contraste, la cantidad promedio de plástico en las playas es

considerablemente mayor, alcanzando los 2.000 kg/km, lo cual puede atribuirse tanto a vertidos intencionados como al "flujo" que existe entre los desechos en las playas y el mar.

En la siguiente figura 1, se puede observar un esquema con la dinámica de introducción y distribución de los plásticos en el ecosistema oceánico.

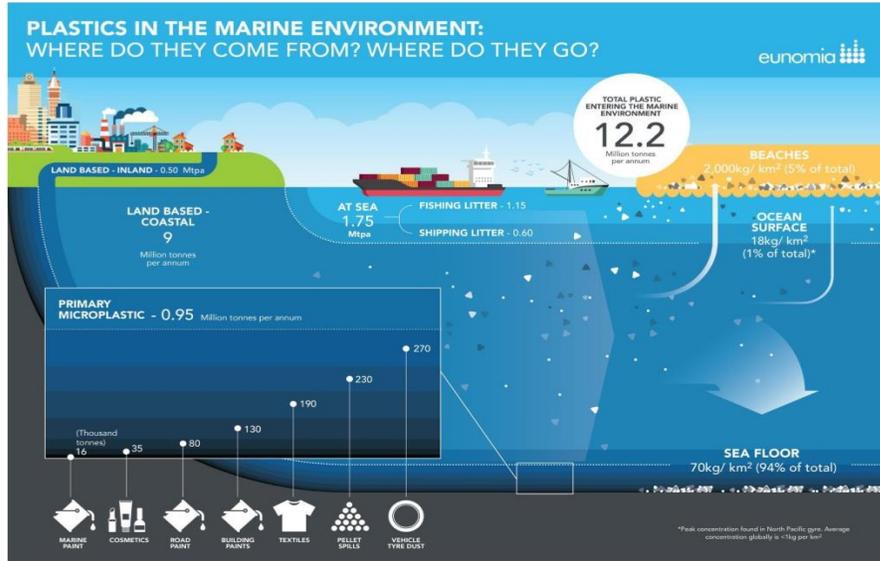


Figura 1. Ciclo de entrada y distribución de plásticos en el medio marino (Fuente: Eunomia)

En un estudio llevado a cabo por PlasticsEurope sobre la producción de plásticos por regiones en el año 2013, concluyó que en Europa se produjeron el 20% del total de la producción mundial (Figura 2).

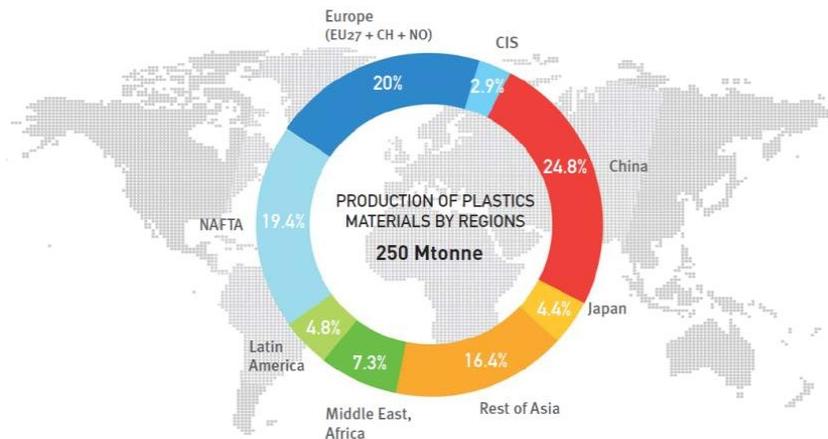


Figura 2. Producción mundial de plásticos (Fuente: PlasticsEurope, 2015)

Además, respecto a la demanda de plásticos en Europa, en este mismo estudio se indicó que cuatro países entre los que se encuentra España suman el 65% del total del plástico demandado, siendo la demanda anual en España del 7,5% tal y como refleja la siguiente figura3.

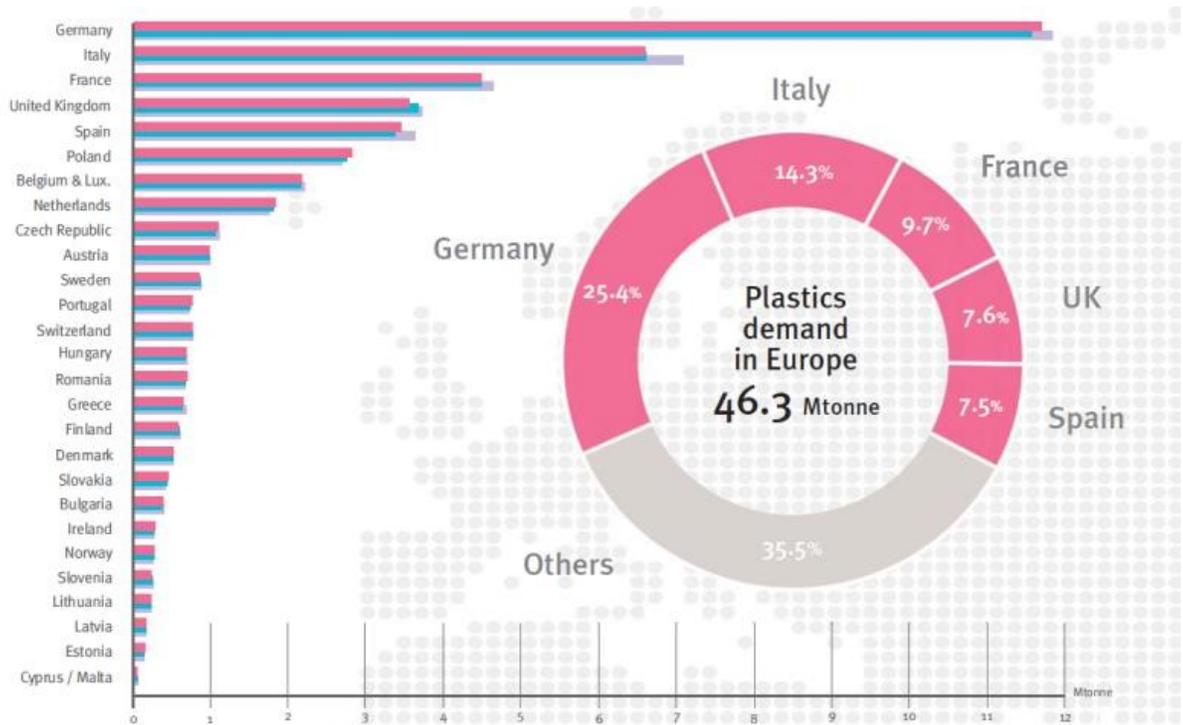


Figura 3. Demanda de materiales plásticos en el continente europeo (Fuente: PlasticsEurope)

Dinámica de los Micro Plásticos en el Medio Marino

Los microplásticos presentes en los ecosistemas acuáticos se localizan en diversos hábitats, tales como la superficie de los océanos, la columna de agua, el lecho marino, las zonas costeras y los organismos que habitan en estos entornos. No obstante, la información disponible acerca de la cantidad de plástico en cada uno de estos espacios es limitada, y el entendimiento sobre las interacciones entre ellos es casi inexistente. Además, se cuenta con aún menos datos sobre la presencia de microplásticos en cuerpos de agua dulce. El movimiento de los microplásticos es complejo y depende de muchos factores: flotabilidad, bioincrustación, el tipo, tamaño y forma de los polímeros, el viento, las corrientes locales y de gran escala, la acción de las olas (GESAMP, 2016). Los esfuerzos por desarrollar modelos de distribución espacial de microplásticos han proporcionado una visión general

sobre las áreas de acumulación a nivel global, además de destacar las variaciones cuantitativas que existen entre regiones y localidades, las cuales pueden diferir en varios órdenes de magnitud. Las áreas particularmente afectadas por la presencia de microplásticos son: el mar Mediterráneo, los mares del este y el sureste asiático y las zonas de convergencia ecuatorial (giros) al norte del Atlántico y del Pacífico (Figura 4).

Un caso particular en el ámbito de los microplásticos: los nanoplásticos

Debido a su diminuto tamaño (inferior a $1\mu\text{m}$) y a su alta relación superficie-volumen, estas partículas presentan un riesgo significativo como vehículos de sustancias tóxicas que pueden atravesar las membranas celulares, comprometiendo así las funciones fisiológicas de los organismos que las consumen.

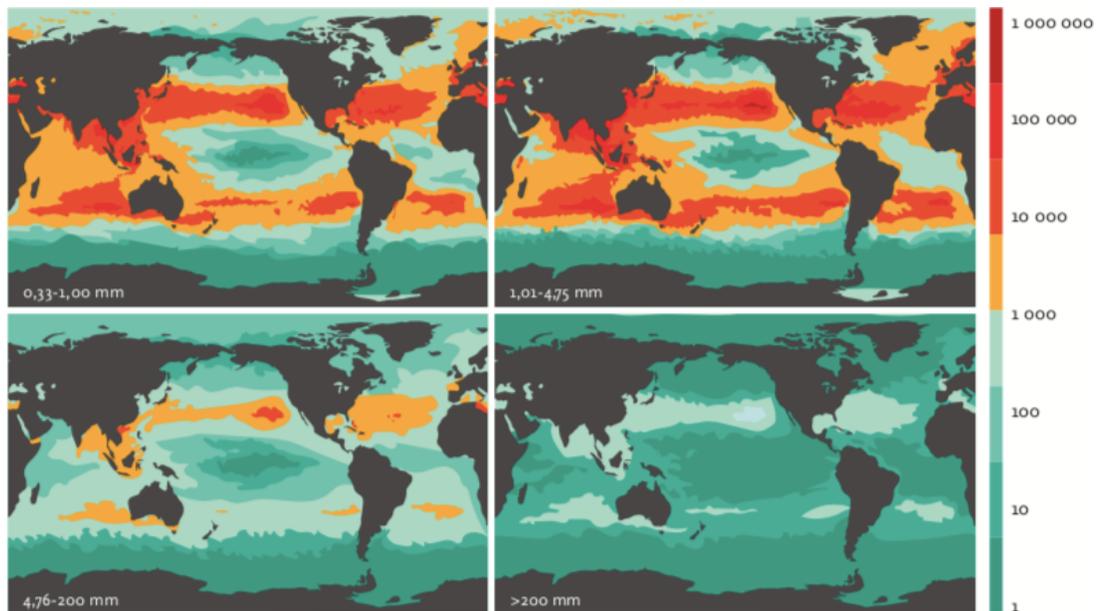


Figura 4. Resultados de modelos de densidad mundial de partículas plásticas (piezas por kilómetro cuadrado, ver barra de colores) en cuatro categorías de tamaño (0,33-1,00 mm, 1,01-4,75 mm, 4,76-200 mm y > 200 mm).

Degradación de Polímeros en Medios Acuáticos

Se ha documentado que, tras la ingestión de microplásticos, las sustancias químicas aditivas que se integran en la composición del plástico son trasladadas al sistema circulatorio y a diversos órganos. Los microplásticos son persistentes y capaces de transferirse a lo largo de la cadena trófica, desde zooplancton y fitoplancton, hasta llegar al humano consumidor de especies de importancia comercial como bivalvos, crustáceos y peces (Wright et al., 2013).

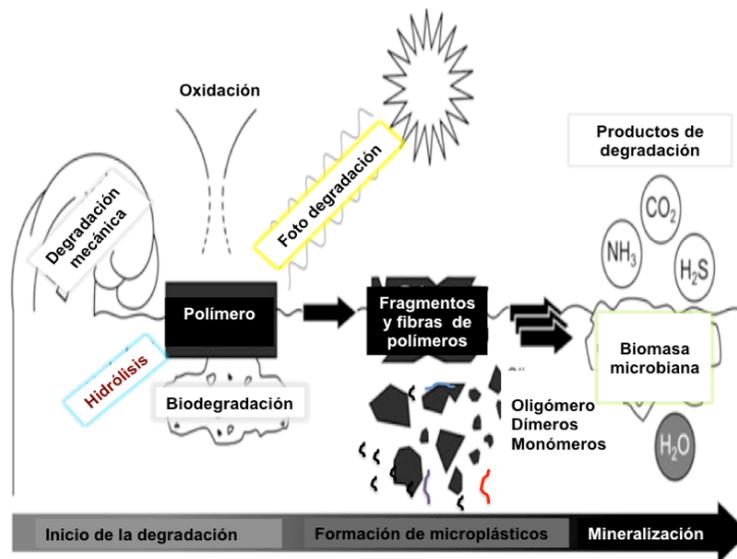


Figura 5. Vías de degradación de polímeros sintéticos en el medio acuático con procesos de degradación involucrados y pasos intermedios hasta la mineralización completa. Fuente: Modificado por Sánchez & tomado de Klein et al., 2018.

Organismos y microplásticos

Debido a su pequeño tamaño y a la complejidad de su extracción de los ecosistemas acuáticos, se han llevado a cabo estudios sobre los impactos físicos de los microplásticos en mejillones, peces y copépodos. Estos consisten en obstrucción física, laceraciones, inflamación en los tejidos y aglutinación de material (Lavender & Thompson, 2014; Li et al., 2016). A nivel sistémico, estos agentes provocan disrupciones en el sistema endocrino, así como procesos de carcinogénesis y teratogénesis. Además, se ha documentado la generación de biopelículas en los polímeros. Éstas pueden cambiar la densidad de los

materiales y, en ocasiones, viajar distancias largas, colonizando organismos en otros lugares (Anastasopoulou *et al.*, 2013; Neves *et al.*, 2015; Bellas *et al.* 2016).

Dada la relevancia de la fauna ictiológica, se ha vuelto fundamental investigar los contaminantes que afectan a estos organismos, así como evaluar la salud del ecosistema que habitan. En este sentido, los seres que habitan en los océanos son diversos y abundantes, siendo los peces uno de los grupos más significativos. La ictiofauna está compuesta por vertebrados acuáticos que poseen branquias. Sin embargo, el número exacto de especies que existen aún no se ha determinado. Sin embargo, los autores estiman alrededor de 25,000 especies, las que, de acuerdo con la clasificación actual, se encuentran distribuidas en 483 familias y 57 ordenes (Werlinger *et al.*, 2004). En términos generales, los peces poseen diez sistemas, y se puede afirmar que la configuración fundamental del tracto digestivo de los vertebrados se originó en los peces. A continuación, se detallan las partes esenciales de un teleósteo típico: boca, cavidad oral, faringe, esófago, estómago, píloro, intestino corto, intestino largo y ano. Entre los peces óseos hay, sin embargo, muchas adaptaciones del tracto digestivo, a veces depende del tipo de alimentación (Lagler *et al.*, 1990).

En México, las especies de peces más relevantes que se extraen son aquellas destinadas al consumo humano. Estas se dividen principalmente en peces óseos, seguidos por elasmobranquios y crustáceos. La actividad pesquera representa uno de los recursos menos aprovechados y, además, se realiza de manera inadecuada. Por lo tanto, resulta fundamental comprender los recursos disponibles en el país. Ello implica conocer las afectaciones que estos organismos pudieran tener y así administrarlos de la mejor manera posible (CONAPESCA, 2016).

Individuo de estudio: Tilapias (*Oreochromis sp*)

La tilapia de género *Oreochromis sp*, es perteneciente a la familia Cichlidae, sub familia pseudocrenilabrinae, orden perciformes, clase actinopterygii, filo chordata, reino animal.

Las tilapias, un grupo de peces originarios de África, han desempeñado un papel significativo en la alimentación humana a lo largo de la historia moderna, proporcionando un alimento de alto valor proteico. Sin embargo, su asociación con un color gris y un sabor a fango ha menoscabado su percepción como fuente alimentaria, afectando su comercialización. En contraste, en las últimas dos décadas, las tilapias han ganado un notable interés en el ámbito de la acuicultura, con perspectivas de cultivo a gran escala. Sus características excepcionales, que incluyen un crecimiento rápido, tolerancia a altas densidades, capacidad de adaptación al cautiverio, aceptación de diversos tipos de alimentos, resistencia a enfermedades y carne blanca de alta calidad, han impulsado su atractivo comercial en el sector acuícola global.

Hábitos alimenticios

La tilapia es un pez que presenta un comportamiento omnívoro, lo que implica que se nutre de una variedad de elementos disponibles en su entorno acuático, tales como algas microscópicas, insectos, frutas y otros alimentos naturales. Además, su capacidad para adaptarse al consumo de alimentos concentrados favorece su cultivo, permitiendo obtener altas producciones en un periodo breve y logrando rendimientos sobresalientes en la carne de pescado.

Reproducción

Las tilapias son peces con una alta capacidad reproductiva; esta especie comienza su proceso de reproducción alrededor de los 3 meses de edad. Por lo tanto, es fundamental llevar a cabo un control y una planificación adecuada de su apareamiento, separando a las hembras de los machos. Además, se recomienda utilizar únicamente machos para el engorde, dado que estos exhiben un crecimiento más eficiente y acelerado.

3. METODOLOGÍA

La investigación se realizó en tres etapas de trabajo:

- A. Campo (*In Vivo*), donde se cultivarán los peces (objetos de estudio);
- B. Laboratorio, donde se analizarán las muestras tomadas además de la fase *In Vitro*;
y,
- C. Análisis de los datos obtenidos, es decir, la fase de gabinete.

A. Trabajo de Campo – *In Vivo*

A.1 Establecimiento de peceras

Se construyó cuatro peceras rectangulares cuyas medidas oscilan entre 30” de largo * 17” de alto * 14” de ancho, con capacidad de 30 galones de agua. Luego de elaboradas las peceras se procedió al llenado de las mismas.

Preliminares

A.2 Siembra y Aclimatación de peces juveniles de *Oreochromis sp*

Se seleccionaron, contaron y empacaron en bolsas plásticas los peces juveniles de 25 g, se transportaron al lugar de las peceras. Los peces fueron trasladados durante las horas matutinas, con el fin de evitar que el agua se calentara por la exposición solar, lo que podría resultar en la muerte de los mismos. Al llegar a los estanques, las bolsas se dejaron flotar en el agua durante 20 minutos para que las temperaturas se equilibraran, permitiendo posteriormente que los peces salieran de la bolsa y se adaptaran a su nuevo entorno. Si no se cumplía con este proceso de aclimatación, podría producirse una mortalidad masiva de los peces, ocasionada por un "shock térmico", dado que la temperatura del agua en las bolsas suele ser superior a la del estanque receptor. Cada pecera constó aproximadamente con 8 juveniles, sumando un total de 32 individuos.

A.3 Preparación del Microplástico

Los pellets de polietileno de baja densidad (LLDPE) con un diámetro $0,3 \text{ cm} \pm 0,1 \text{ cm}$, se adquirieron por medio de la empresa EASTCHEM®. Dicho pellets de polietileno se redujeron en tamaño, utilizando un molinillo eléctrico marca CGOLDENWALL, luego se separaron las partículas obtenidas con la ayuda de un tamizador marca TENCAN (ZS-200).

Los microplásticos tamizados tienen tamaños <80 mm; <40mm y <20mm; el tamaño que se utilizó fue menor a 20 mm; el tamaño utilizado de MP en la experiencia fue de $30.8 \pm 4.6 \mu\text{m}$ (medidos en microscopio euromex holland).

Diseño Experimental

A.4 Cultivo de *Oreochromis sp* (Fase de Experimento *In Vivo*)

Se clasificaron las peceras en A, B, C y D; la primera pecera “CONTROL” (A) funcionó como control o testigo, el cual no se alteró la alimentación de los peces (alimento normal de 50% y 36% de proteína, según el periodo de vida) el alimento utilizado pertenecía a la línea Efico Cromis (BioMar), la segunda pecera “MP1” (B), tercera pecera “MP2” (C) y cuarta pecera MP3 (D) pecera fueron las manipuladas introduciendo en las peceras, además del alimento, $1.75 \text{ g}^{\text{MP}}/\text{L}$ de microplástico. El ensayo se realizó por triplicado con un control. Utilizando la pecera A como control y B, C, D como réplicas de una sola concentración de microplástico.

A.5 Monitoreo de *Oreochromis sp*

Cada 15 días por un periodo de dos meses, se observaron, anotaron y analizaron medidas biométricas (longitud total, peso), de los peces, determinando diferencias entre las peceras B, C y D en base a la pecera control (A). Tomando en cuenta que la pecera B, C y D fueron alteradas con la presencia de microplásticos. Se realizó extracción de sangre para realizar pruebas hematológicas, con la ayuda de tubos BD Vacutainer con EDTA K2-BD, para colocar la muestra hematológica y jeringuillas de 3ml. Las pruebas hematológicas fueron realizadas mediante un analizador de sangre 3 en 1, marca Easy Touch GCHb. Se tomaron dos peces al azar por pecera, para realizar las diferentes pruebas mencionadas.

A.6 Sedación y Sacrificio de Peces

Para la extracción de sangre los peces fueron sedados con quinaldina en proporciones 3 – 5 gotas/ 5 gal. El sacrificio de los animales para la realización de la parte *In Vitro* se llevó a cabo mediante un método físico, decapitación, método recomendado para peces (Clifford, 1984), siguiendo y manteniendo las normas de bioética.

B. Trabajo de Laboratorio

B.1 Análisis de Muestras de *Oreochromis sp*

Se realizaron pruebas enzimáticas (proteasas ácidas y alcalinas totales), utilizando en el procedimiento una centrifugadora temporada TGL, No: 30401 y capacidad 12 x 5/2ml; para medir la absorbancia se utilizó un espectofotómetro UV-1800, para preparar las muestras de intestino y estómago con un blender (Yeipower mezclador de dispersión de emulsionante homogeneizador, homogeneizador de alta velocidad 1000~22000rpm 5~33.8 fl oz FSH-2C versión actualizada [110V]) y pruebas hematológicas donde se tomaron en cuenta nivel de glucosa, hemoglobina y colesterol; con un medidor EasyTouch GCHb de monitoreo multifunción en sangre.

C. Trabajo de Laboratorio – *In Vitro*

C.1 Actividad Enzimática según la concentración de plástico

Para comprender la relación entre la digestión y la ingesta de microplásticos, se recreó la digestión de *Oreochromis sp*, basada en las concentraciones de microplásticos antes descritas, donde se analizaron la enzima proteasa ácida y alcalina totales. Se determinó el efecto del microplástico sobre las actividades proteasa ácida total, proteasa alcalina total, según los métodos adaptados de Anson (1938) y Walter (1984) .

C.1.1 Extracción de la enzima

C.1.1.1 Extracto de Estómagos e Intestinos de *Oreochromis sp*.

Se utilizaron tres estómagos y tres intestinos; fueron mezclados con 5 ml de agua destilada, cada estructura por separada. Para lograr esta mezcla, se utilizó un mezclador de dispersión emulsionante de homogeneizador [Yeipower Homogeneizador de alta velocidad 1000 ~ 22000 rpm 5 ~ 33.8 fl oz FSH-2C Versión actualizada (110V)], todo el procedimiento se debió realizar en frío para evitar la desnaturalización de la enzima. Luego de obtenido las mezclas se centrifugó y se utilizó el sobrenadante.

C.1.2 Actividad Proteasa Ácida Total [Método adaptado de Anson (1938)]

Sustrato en buffer

Hemoglobina al 0.5% (w/v), diluida en buffer Glicina-HCl 50 mM a pH 2.

Reactivos

- TCA al 20% (w/v)
- 1000 ul de sustrato

Método

- El ensayo se realizó en tubos eppendorf 2 ml (por triplicado) y triplicado para el blanco
Inicia reacción: $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ y tiempo de incubación = 20 min
- Se añadió a la mezcla 20 ul de enzima, seguido de una incubación 30 min (durante el tiempo de incubación se mantuvo las mezclas homogéneas en un multi vortex Analog Shaker - Thomas Scientific, a una velocidad de 3).
- Trascurrido el tiempo se detuvo la reacción añadiendo 500 ul de TCA 20%.

Para realizar el blanco se cambió el orden de la mezcla de reacción, dejando al final la adición de enzima cuando ya se haya detenido la reacción con el TCA.

Centrifugado

- Se centrifugó por 10 min a 12,000 g, 2°C .

Medición

Se leyó a una Abs de 280 nm del sobrenadante en una cubeta de cuarzo (trayectoria de luz de 0.39 pulgadas, volumen de 0.13 onzas, rango de longitud de onda de 190-2500 nm y capacidad de 3.5 ml) para ultravioleta con 200 ul de muestra.

C.1.2 Actividad Proteasa Alcalina Total [Método adaptado Walter (1984)]

Sustrato en buffer

Caseína al 0.5 % (w/v), diluida en buffer Tris-HCl 50 mM, pH 9 y 10 mM CaCl_2

Nota: se calentó suavemente la mezcla, y se subió el pH a 12 aproximadamente para mejorar la solubilidad de la caseína, para finalizar se bajó el pH lentamente a 9, hasta obtener una solución hialina.

Reactivos

- TCA al 20% (w/v)
- 1000 ul de sustrato

Metodo

- El ensayo se realizó en tubos eppendorf 2 ml (por triplicado) y triplicado para blanco. Inicia reacción: $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ y tiempo de incubación = 20 min
- Se añadió a la mezcla 20 ul de enzima, seguido de una incubación 20 min (durante el tiempo de incubación se mantuvo las mezclas homogéneas en un multi vortex Analog Shaker - Thomas Scientific, a una velocidad de 3).
- Trascurrido el tiempo se detuvo la reacción añadiendo 500 ul de TCA 20%.

Para realizar el blanco se cambió el orden de la mezcla de reacción, dejando al final la adición de enzima cuando ya se haya detenido la reacción con el TCA.

Centrifugado

- Se centrifugó por 10 min a 12,000 g, 2°C .

Medición

Se leyó a una Abs de 280 nm del sobrenadante en una cubeta de cuarzo (trayectoria de luz de 0.39 pulgadas, volumen de 0.13 onzas, rango de longitud de onda de 190-2500 nm y capacidad de 3.5 ml) para ultravioleta con 200 ul de muestra.

D. Trabajo de Gabinete

Tras la recopilación de los datos provenientes de la evaluación de microplásticos en individuos de *Oreochromis* sp, se realizaron las pruebas estadísticas como t-student para dos muestras independientes (un control y tres réplicas de una concentración de microplástico) para determinar si existió variaciones en los tratamientos. Se utilizó Excel,

StatPlus y minitab para obtener los estadísticos mencionados. Se examinó la posibilidad de que existiera una relación entre los resultados obtenidos (medidas morfométricas y actividad enzimática) y el pienso manipulado con microplásticos.

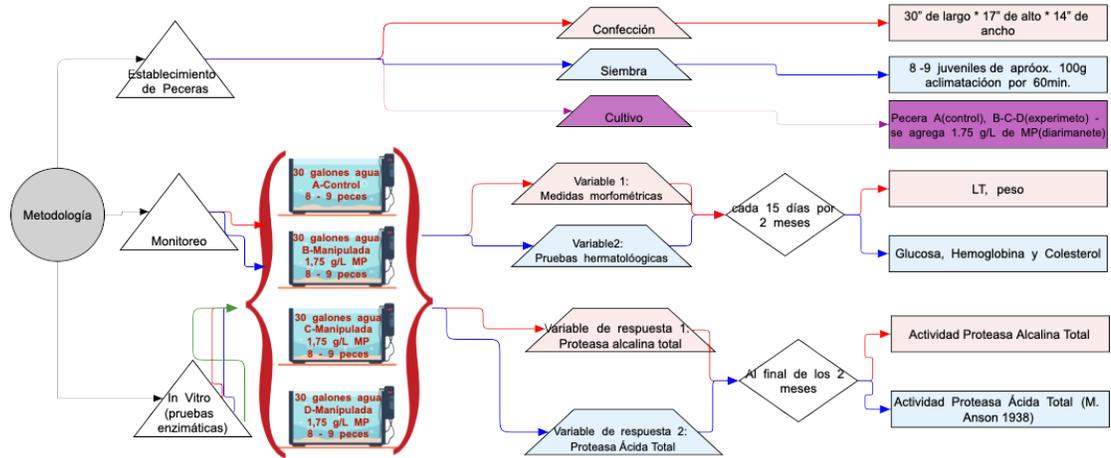


Figura 6. Resumen de metodología para determinar los Efectos de los Microplásticos en la Anatomía y Fisiología Digestiva de *Oreochromis* sp

3.1 Tipo de Investigación

Se realizó, la investigación de tipo experimental.

3.1.1 Justificación

La proliferación de microplásticos ha emergido como un problema significativo de contaminación ambiental. Su eliminación resulta complicada con las tecnologías actuales, las cuales son, además, costosas e ineficaces. Una vez que los microplásticos penetran en el ecosistema, son consumidos por diversas especies, lo que genera alteraciones químicas y físicas que afectan la vida de los organismos. Asimismo, estos contaminantes son persistentes y tienen la capacidad de transferirse a través de la cadena trófica, alcanzando eventualmente al ser humano. Por esta razón, se han llevado a cabo numerosos estudios a nivel global que analizan la composición de los microplásticos, sus posibles efectos adversos, sus fuentes y su trayectoria. No obstante, en Panamá existen escasos registros sobre la presencia de microplásticos y sus posibles impactos en las poblaciones de peces. Por ello, es necesario realizar un monitoreo de partículas de microplásticos en un sistema controlado con ejemplares de *Oreochromis* sp.

3.2 Variables o Categorías de la Investigación

Variable Independiente: concentración de microplástico

Variable Dependiente: datos biométricos (longitud total, peso)

Variable Dependiente: datos hematológicos (glucosa, colesterol, hemoglobina)

Variable Dependiente: actividad enzimática (proteasa ácida y alcalina totales)

3.2.1 Operacional (Operacionalización de las variables)

| Tipo de Variable | Variable | Definición | Equipo | Unidad |
|------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Independiente | Microplástico | Fragmento de plástico de tamaño diminuto, que puede ser fabricado específicamente o resultar de la fragmentación de plásticos más voluminosos, que es insoluble en agua y tiene una capacidad de degradación muy reducida. | Molinillo eléctrico marca CGOLDENWALL Tamizador marca TENCAN (ZS-200) | mm |
| Dependiente | Longitud total | La medida que abarca desde la extremidad del hocico hasta la parte más distal del lóbulo más largo de la aleta caudal. | Cinta métrica Ictiómetro | cm |

| | | | | |
|--|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------|
| | Peso | Consiste en la acumulación progresiva de proteínas, grasas y agua a lo largo de un periodo determinado. | Pesa digital | g |
| | Glucosa | Es el azúcar predominante en la sangre y constituye la fuente principal de energía para las células del organismo. | Medidor Easy Touch GCHb | mg/dL |
| | Colesterol | Es un lípido presente en la membrana plasmática de las células eucariotas, así como en los tejidos de todos los animales y en el plasma sanguíneo de los vertebrados. | Medidor Easy Touch GCHb | mg/dL |
| | Hemoglobina | Se trata de una hemoproteína presente en la sangre, con una masa molecular de 64 000 g/mol y un color rojo distintivo, cuya función principal es | Medidor Easy Touch GCHb | g/dL |

| | | | | |
|--|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|----|
| | | el transporte de oxígeno (O ₂) desde los órganos respiratorios hacia los tejidos del organismo. | | |
| | Proteasa ácida total | Son las endopeptidasas donde su actividad catalítica está condicionada por la presencia de dos residuos de ácido aspártico. | Espectofotómetro UV-1800 | nm |
| | Proteasa alcalina total | Son enzimas extracelulares, estabilizadas por el ión Ca ²⁺ , donde su actividad óptima se manifiesta en un rango de pH que oscila entre 9 y 11. | Espectofotómetro UV-1800 | nm |

3.3 Validez y confiabilidad (programas informáticos de análisis)

Se utilizó para los análisis estadísticos, Microsoft Excel Versión 16.80 (23121017) y StatPlus:mac - programa de análisis estadístico, versión v8 (Build 8.0.3/Corev7.8.11 [arm64]).

3.4 Población

En este experimento se trabajó con una población de peces de treinta y dos individuos, separados en cuatro peceras, donde cada pecera contenía ocho individuos.

3.4.1 Muestra

Se trabajó con doce individuos por mediciones, tres individuos por cada pecera.

3.4.2 Tipo de Muestreo (s)

Se implementó un muestreo probabilístico que consistió en un procedimiento de selección aleatoria simple.

3.4.2.1 Selección de los elementos muestrales

El estudio realizado se seleccionaron 3 individuos como muestra en cada uno de los grupos de experimentos y control; seleccionados de manera aleatoria.

3.5 Métodos e instrumentos de investigación

Dentro de los métodos e instrumentos de investigación están: la observación, donde se utilizó el cuaderno de datos, cámaras y grabados; análisis de contenido y la parte experimental que incluye la manipulación del pienso de los peces, además de la extracción de muestras hematológicas e *In Vitro*.

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los parámetros hematológicos (glucosa, hemoglobina y colesterol) medidos en peces de tilapia, se muestra una comparación entre el grupo control y los experimentos que fueron tratados con microplásticos (1.75 g^{MP}/L), los datos en estas medidas (Hg, Glu) muestran un leve descenso en sus medidas en los grupos de experimento, tanto en las medidas por muestreo (Anexos: Tabla 12, Tabla 13, Tabla 14, Tabla 15) como en los resúmenes de dichos valores (Anexo: Tabla 1), resultados similares a los realizados en *O. niloticus* de Hamed *et al* 2019 y en la trucha arco iris (Hodkovicova *et al*, 2021).

En la Tabla 12 y Tabla 13 (anexos), que corresponde a los muestreos uno y dos, se puede observar deceso de los niveles de glucosa en los grupos experimento en comparación con el control, mientras que para el muestreo 1, la hemoglobina (Tabla 12) se muestra un descenso en comparación con el muestreo 2 (Tabla 13) que se marcó niveles de hemoglobina similares en grupos experimentos y control; tendencia parecida en los estudios realizados por Hodkovicova *et al*, 2021 en la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*.

En el muestreo 3, se observó disminución de glucosa en la pecera B - MP1 y aumento en la pecera C - MP2 y pecera D - MP3; para la hemoglobina, aumentó los niveles en la pecera B - MP1 y pecera D - MP3, mientras que para la pecera pecera C - MP2 disminuyó; con el colesterol lo niveles se mantuvieron en rangos similares, toda la comparación en relación al grupo control (Anexo: Tabla 14) (Figura 8) (Figura 9) (Figura 10) (Figura 11) (Figura 12).

Para el muestreo 4, de los parámetros hematológicos, se mostró disminución en todos los valores de las variables glucosa, hemoglobina y colesterol (Anexo: Tabla 15).

Tabla 1. Comparación de mediciones de parámetro hematológico (glucosa) por pecera control, experimentos y muestreos

| Pecera: Grupo Control [Glucosa (mg/dL)] | | | |
|------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 125 | 55 | 78 | 122 |
| 120 | 206 | 75 | 120 |
| | 86 | | |

| Pecera: Grupo Experimento Pecera B - MP1 [Glucosa (mg/dL)] | | | |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 84 | 84 | 50 | 78 |
| 49 | 133 | 59 | 65 |
| 181 | 68 | 70 | 101 |

| Pecera: Grupo Experimento Pecera C - MP2 [Glucosa (mg/dL)] | | | |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 30 | 92 | 91 | 66 |
| 40 | 96 | 90 | 56 |
| 74 | 104 | 99 | 89 |

| Pecera: Grupo Experimento pecera D - MP3 [Glucosa (mg/dL)] | | | |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 68 | 40 | 85 | 67 |
| 31 | 63 | 141 | 54 |
| 50 | 28 | | |

Tabla 2. Comparación de mediciones de parámetro hematológico (hemoglobina) por pecera control, experimentos y muestreos

| Pecera: Grupo Control [Hemoglobina (g/dL)] | | | |
|---------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 13.4 | 9.3 | 10.7 | 12.9 |
| 13.7 | 15.1 | 9.9 | 12.6 |
| | 13.2 | | |
| Pecera: Grupo Experimento B - MP1 [Hemoglobina (g/dL)] | | | |
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 12.6 | 12.8 | 10.9 | 9.4 |
| 9.5 | 12.8 | 11.2 | 12.6 |
| 13.7 | 11.7 | 15.3 | 13.7 |
| Pecera: Grupo Experimento C - MP2 [Hemoglobina (g/dL)] | | | |
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 7.1 | 12.9 | 7.3 | 8.9 |
| 8.7 | 13.1 | 7.2 | 8.7 |
| 11.4 | 13.9 | 11.8 | 10.4 |
| Pecera: Grupo Experimento C - MP3 [Hemoglobina (g/dL)] | | | |
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 7.3 | 13.3 | 8.1 | 6.4 |
| | 13.4 | 14.3 | 9.2 |
| 12.1 | 12.3 | | |

Tabla 3. Comparación de mediciones de parámetro hematológico (colesterol) por pecera control, experimentos y muestreos

| Pecera: Grupo Control [Colesterol (mg/dL)] | | | |
|---------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 170 | 142 | 142 | 167 |
| 175 | 233 | 139.7 | 158 |
| | 210 | | |
| Pecera: Grupo Experimento B - MP1 [Colesterol (mg/dL)] | | | |
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 320 | 263 | 124 | 123 |
| 189 | 171 | 194 | 99 |
| 156 | 188 | 118 | 112.3 |
| Pecera: Grupo Experimento C - MP2 [Colesterol (mg/dL)] | | | |
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 160 | 182 | 175 | 138 |
| 178 | 182 | 108 | 131.2 |
| 135 | 137 | 158 | 99.2 |
| Pecera: Grupo Experimento D - MP3 [Colesterol (mg/dL)] | | | |
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 375 | 156 | 100 | 143.1 |
| | 327 | 172 | 99.6 |
| 142 | 181 | | |

Tabla 4. Promedios de Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control

| Muestras | Control | | | Experimentos MP | | |
|-----------|--------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
| M1 | 122.5 | 13.6 | 172.5 | 67.5 | 10.2 | 212.6 |
| M2 | 115.7 | 12.5 | 195 | 78.7 | 12.9 | 198.5 |
| M3 | 76.5 | 10.3 | 140.9 | 88.7 | 10.8 | 142.8 |
| M4 | 121 | 12.8 | 162.5 | 70.7 | 9.7 | 118.5 |

MP: microplástico

Los datos biométricos obtenidos durante el estudio, se muestran por variable y número de muestreo, en las tablas del anexo a continuación (Tabla No16), (Tabla No17), (Tabla No18), (Tabla No19), (Tabla No5), (Tabla No6), con sus respectivos gráficos (Figura14), (Figura15), (Figura16) y (Figura17).

En cuanto a los valores morfométricos trabajados en *Oreochromis*, se destaca que tanto el grupo control como en los experimentos se observó una ganancia de peso y longitud total de los peces, similares (Anexo: Tabla No7); es decir, que entre los grupos estudiados, los experimentos que poseían alimentación con partículas de microplásticos, no influyó en el crecimiento normal y peso de estos peces. A lo largo de los muestreos se utilizaron los mismos instrumentos de mediciones y pesaje. Estudios en la trucha arco iris, muestran resultados similares donde la ingesta de microplásticos no han demostrado cambios en el crecimiento de peces expuestos a diferentes tipos de ellos (Kim *et al.*, 2019).

Tabla 5. Comparación de mediciones de datos biométricos (peso) por pecera control, experimentos y muestreos

| Pecera: Grupo Control [Peso (g)] | | | |
|-----------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 76 | 65 | 141 | 152 |
| 65 | 67 | 142 | 146 |
| 64 | 79 | | |

| Pecera: Grupo Experimento B - MP1 [Peso (g)] | | | |
|-----------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 121 | 148 | 183 | 182 |
| 97 | 167 | 277 | 184 |
| 104 | 145 | 174 | 220 |

| Pecera: Grupo Experimento C - MP2 [Peso (g)] | | | |
|-----------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 103 | 187 | 340 | 300 |
| 161 | 194 | 246 | 365 |
| 135 | 162 | 290 | 278 |

| Pecera: Grupo Experimento D - MP3 [Peso (g)] | | | |
|-----------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 143 | 68 | 53 | 66 |
| 67 | 152 | 264 | 237 |
| 75 | 78 | | |

Tabla 6. Comparación de mediciones de datos biométricos (longitud total) por pecera control, experimentos y muestreos

| Pecera: Grupo Control [L. total (cm)] | | | |
|----------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 17 | 15 | 20 | 19 |
| 17 | 15.4 | 22 | 16 |
| 15.8 | 16 | | |

| Pecera: Grupo Experimento B - MP1 [L. total (cm)] | | | |
|----------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 18.9 | 20.4 | 22 | 25 |
| 17.9 | 21 | 25 | 23.2 |
| 18.8 | 19.2 | 24.4 | 25.6 |

| Pecera: Grupo Experimento C - MP2 [L. total (cm)] | | | |
|----------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 18.5 | 22 | 28.5 | 29.5 |
| 21.2 | 33 | 24.2 | 30.2 |
| 20.3 | 20.5 | 25.4 | 26.1 |

| Pecera: Grupo Experimento D - MP3 [L. total (cm)] | | | |
|----------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| M1 | M2 | M3 | M4 |
| 21 | 16.4 | 18 | 21 |
| 17 | 21 | 24.8 | 24 |
| 17.5 | 16.8 | | |

Tabla 7. Ganancia de Peso y LT en Porcentaje (%)

| Valores Iniciales | | | Control | | Experimentos MP | |
|-------------------|-----------------|----------|----------|---------|-----------------|---------|
| Peso Inicial (g) | LT Inicial (cm) | Muestras | Peso (g) | LT (cm) | Peso (g) | LT (cm) |
| 45 | 11 | M1 | 63.4 | 33.7 | 77.6 | 42.1 |
| | | M2 | 64.4 | 29.0 | 82.7 | 48.0 |
| | | M3 | 82.3 | 47.6 | 88.7 | 53.7 |
| | | M4 | 83.2 | 37.1 | 88.7 | 56.4 |

LT: longitud total MP: microplástico

Tabla 8. Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

| | Glucosa | Hemoglobina | Colesterol | Peso | LT |
|---------------------------------------|------------|-------------|------------|--------------|------------|
| Estadístico t | 2.73856082 | 1.39459127 | -0.0156441 | -1.824265783 | -2.6012111 |
| P(T<=t) una cola | 0.01690006 | 0.10629298 | 0.49401277 | 0.058960666 | 0.02029812 |
| Valor crítico de t (una cola) | 1.94318028 | 1.94318028 | 1.94318028 | 1.943180281 | 1.94318028 |
| P(T<=t) dos colas | 0.03380012 | 0.21258595 | 0.98802554 | 0.117921332 | 0.04059624 |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2.44691185 | 2.44691185 | 2.44691185 | 2.446911851 | 2.44691185 |

LT: longitud total

En la segunda etapa de la experiencia, se trabajó con la actividad enzimática *in vitro*, al cual se realizaron réplicas de tres por cada muestra, donde se le agregó 0.001g de MP a las muestras de experimentos, proporcionando así la presencia de la micropartícula. Estas medidas en la proteasa ácida total (estómago) y proteasa alcalina total (intestino), fueron medidas a una absorbancia de 280 nm (Tabla No15, Tabla No1). En ambas actividades

enzimáticas *in vitro*, no se detectó inhibición enzimática. Esto indica que por el periodo de tiempo de estudio, las proteasas totales no interrumpieron la actividad proteolítica.

En este aspecto, se muestra relación entre la actividad proteolítica normal y la variable peso y LT (Tabla No13); teniendo en cuenta que al estar en correcto funcionamiento no afecta el crecimiento normal del pez, por tanto sus medidas morfométricas no son afectadas; evidenciando que las muestras de experimento junto con los blancos, no marcan un cambio importante tras la ingesta de microplástico.

Tabla 9. Actividad In Vitro de la Proteasa Ácida Total (estómago)

| | Blanco | Muestras SMP | | | Blanco | Muestras MP | | |
|-----------|--------|--------------|-------|-------|--------|-------------|-------|-------|
| | | M1 | M2 | M3 | | M1 | M2 | M3 |
| 1 | 0.358 | 0.613 | 0.613 | - | 0.359 | 0.618 | 0.627 | 0.62 |
| 2 | 0.58 | 0.59 | 0.602 | 0.626 | 0.369 | 0.62 | 0.63 | 0.675 |
| 3 | 0.36 | 0.593 | 0.626 | 0.608 | 0.367 | 0.656 | 0.625 | 0.62 |
| \bar{X} | 0.433 | 0.599 | 0.614 | 0.617 | 0.365 | 0.631 | 0.627 | 0.638 |

SMP: sin microplástico MP: con microplástico

Tabla 10. Actividad In Vitro de la Proteasa Alcalina Total (intestino)

| | Blanco | Muestras SMP | | | Blanco | Muestras MP | | |
|-----------|--------|--------------|-------|-------|--------|-------------|-------|-------|
| | | M1 | M2 | M3 | | M1 | M2 | M3 |
| 1 | 0.883 | 2.519 | 2.23 | 2.285 | 0.877 | 2.726 | 2.684 | 2.765 |
| 2 | 0.862 | 2.194 | 2.301 | 2.348 | 0.912 | 2.665 | 2.698 | 2.684 |
| 3 | 0.857 | 2.36 | 2.315 | 2.192 | 0.935 | 2.705 | 2.712 | 2.749 |
| \bar{X} | 0.867 | 2.358 | 2.282 | 2.275 | 0.908 | 2.699 | 2.698 | 2.733 |

SMP: sin microplástico MP: con microplástico

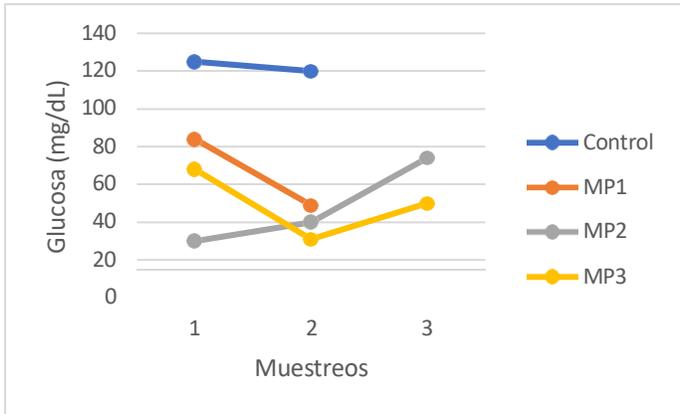
Estas variables estudiadas, entre ellas (blancos y experimentos); al analizar los gráficos, muestran lecturas separadas, donde muestran la disminución de las variables glucosa, hemoglobina y colesterol; presentados en el primer (M1) y último muestreo (M4), de los resúmenes de datos (Figura No13).

La Figura No18, muestra como el crecimiento del pez en longitud total y peso, no se ven afectadas por la ingesta de microplástico, todo esto respalda los resultados obtenidos y discutidos en la sección de actividad *in vitro*, y estudios realizados por (Kim et al., 2019).

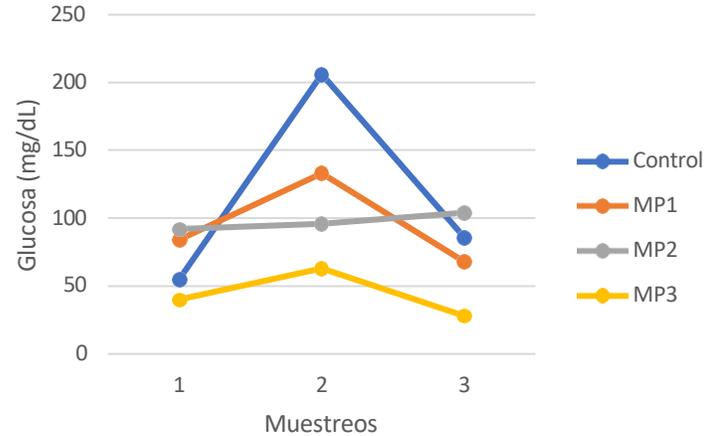
Tabla 11. Datos generales de disección de peces y conteo de MP encontrado

| Muestra | Peso (g) | LT (cm) | Peso (g) (estómago) | Peso (g) (intestino) | Cantidad de micropartículas | Peso MP (g) |
|---------|----------|---------|---------------------|----------------------|-----------------------------|-------------|
| 1 | 52.19 | 15.7 | 0.35 | 6.81 | 5 | 0.0065 |
| 2 | 149.86 | 20.2 | 0.59 | 1.20 | 10 | 0.0154 |
| 3 | 173.87 | 22.1 | 3.85 | 5.57 | 20 | 0.0044 |

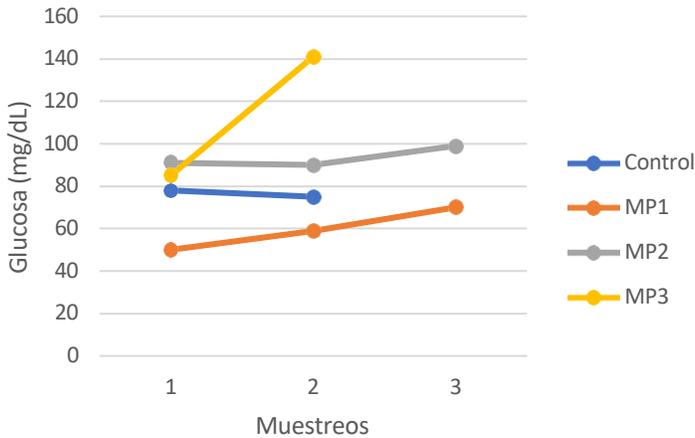
a)



b)



c)



d)

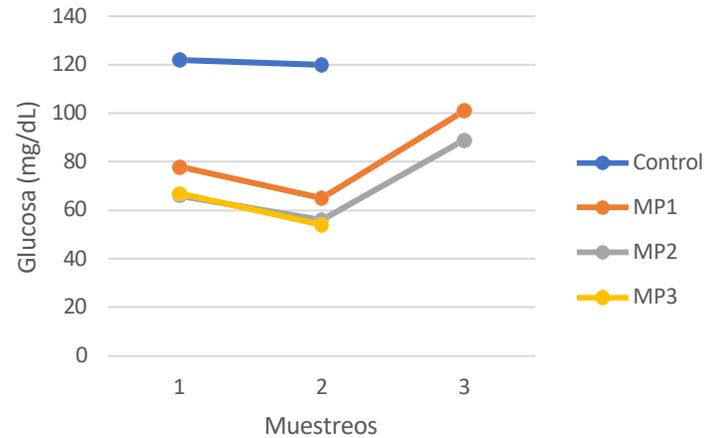


Figura 7. Mediciones de glucosa en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2 c. Muestreo 3 d. Muestreo 4

En las medidas obtenidas de glucosa, observamos comparando con el grupo control, que en el muestro 1 se muestra un ligero descenso en las tres peceras de experimentos (B - MP1, C - MP2, D - MP3) en los peces 1 y 2; para el muestreo 2, se observa un ascenso de niveles de glucosa en los grupos experimentos B - MP1 y C - MP2 en los peces 1 y 2, en el D - MP3 hubo un descenso aproximadamente de 10 mg/dL, en el pez 1 (Figura 8).

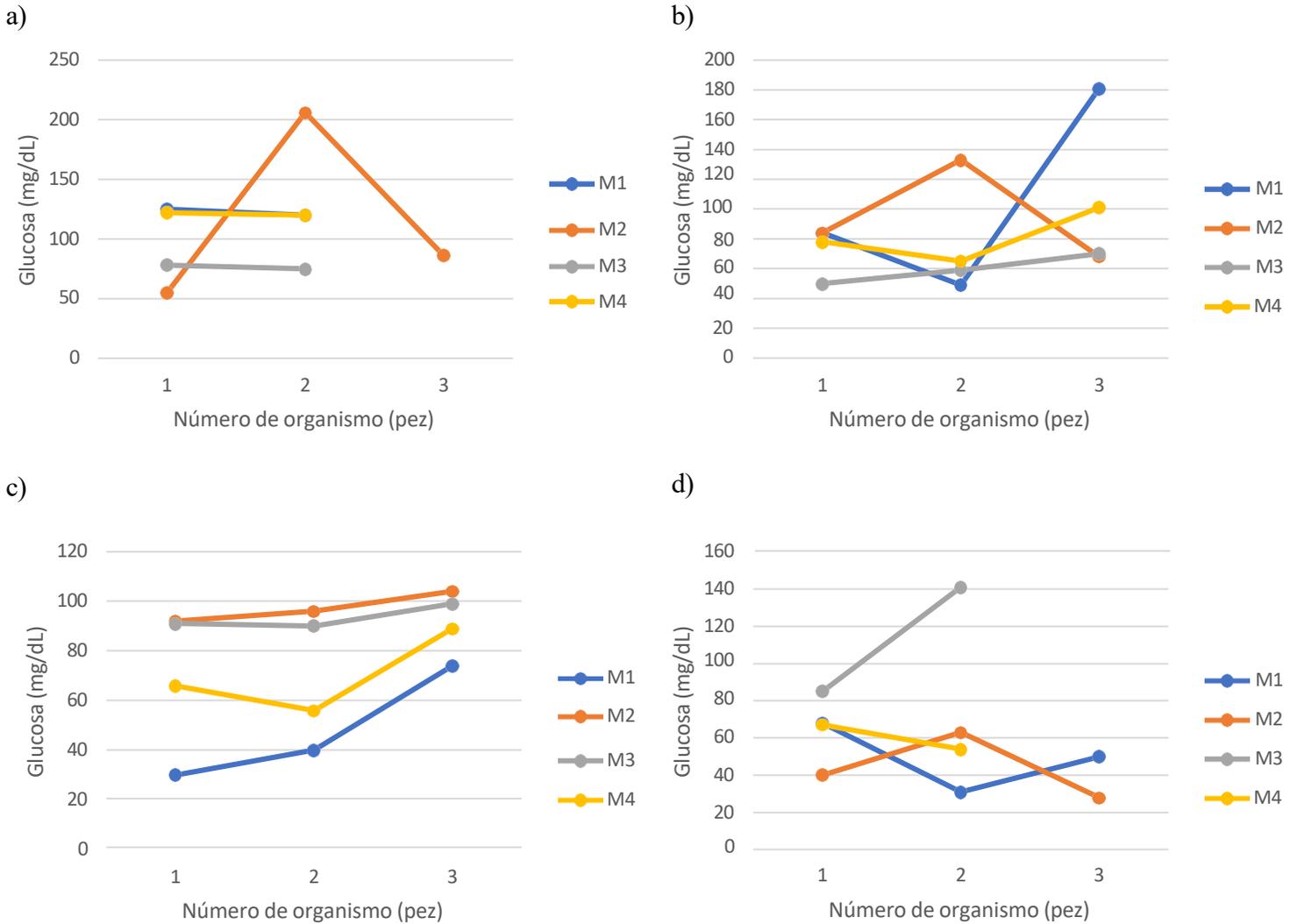


Figura 8. Mediciones de glucosa (mg/dL) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3

En las medidas de glucosa, para el muestreo 1 se observa lecturas inferiores en los grupos experimentos (B-MP1, C-MP2, D-MP3) comparadas con el grupo control. En el muestreo 2 y 4, existió un ascenso marcado en los tres grupos experimentos, con el pez 1 (Figura 9).

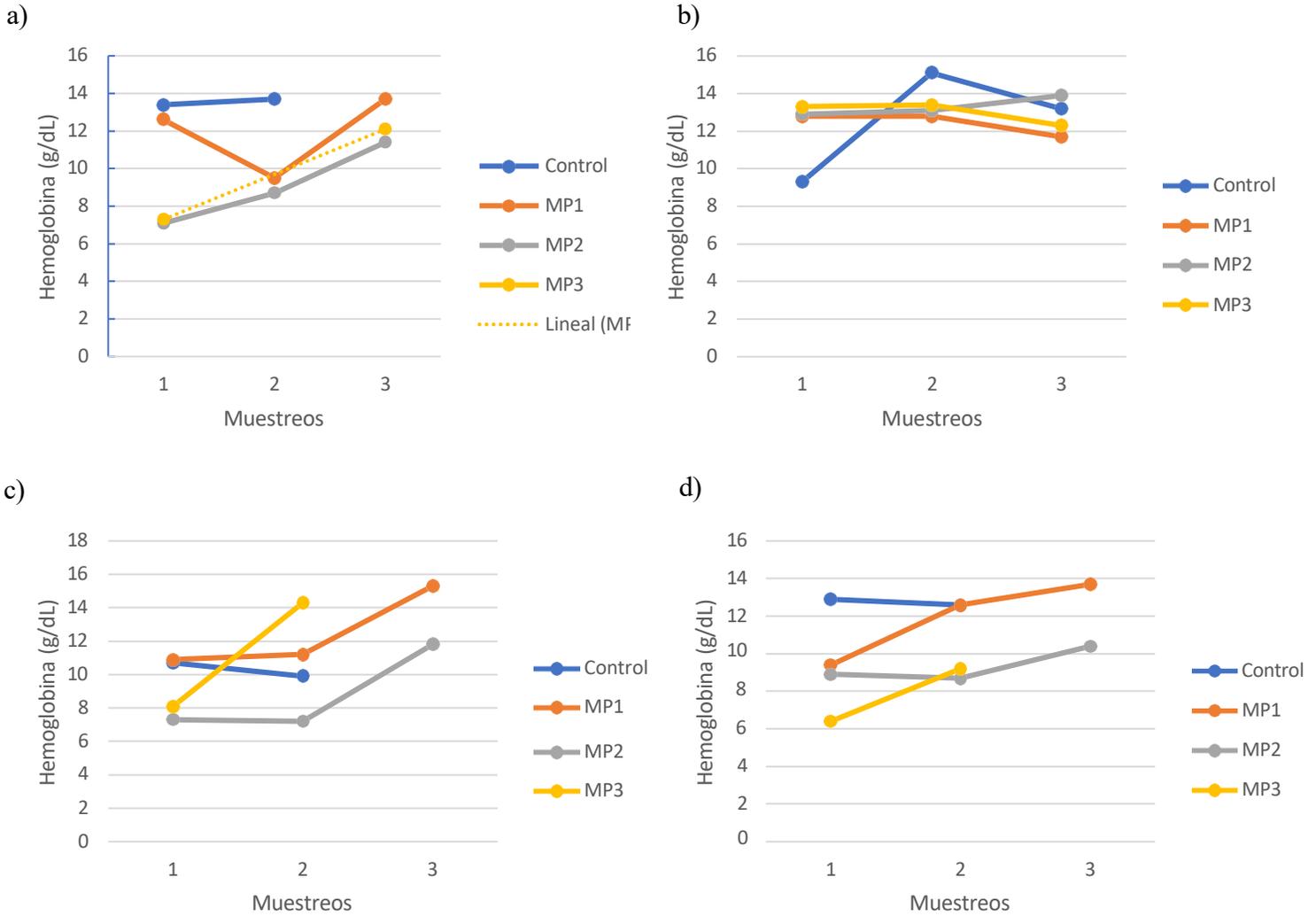


Figura 9. Mediciones de hemoglobina en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2 c. Muestreo 3 d. Muestreo 4

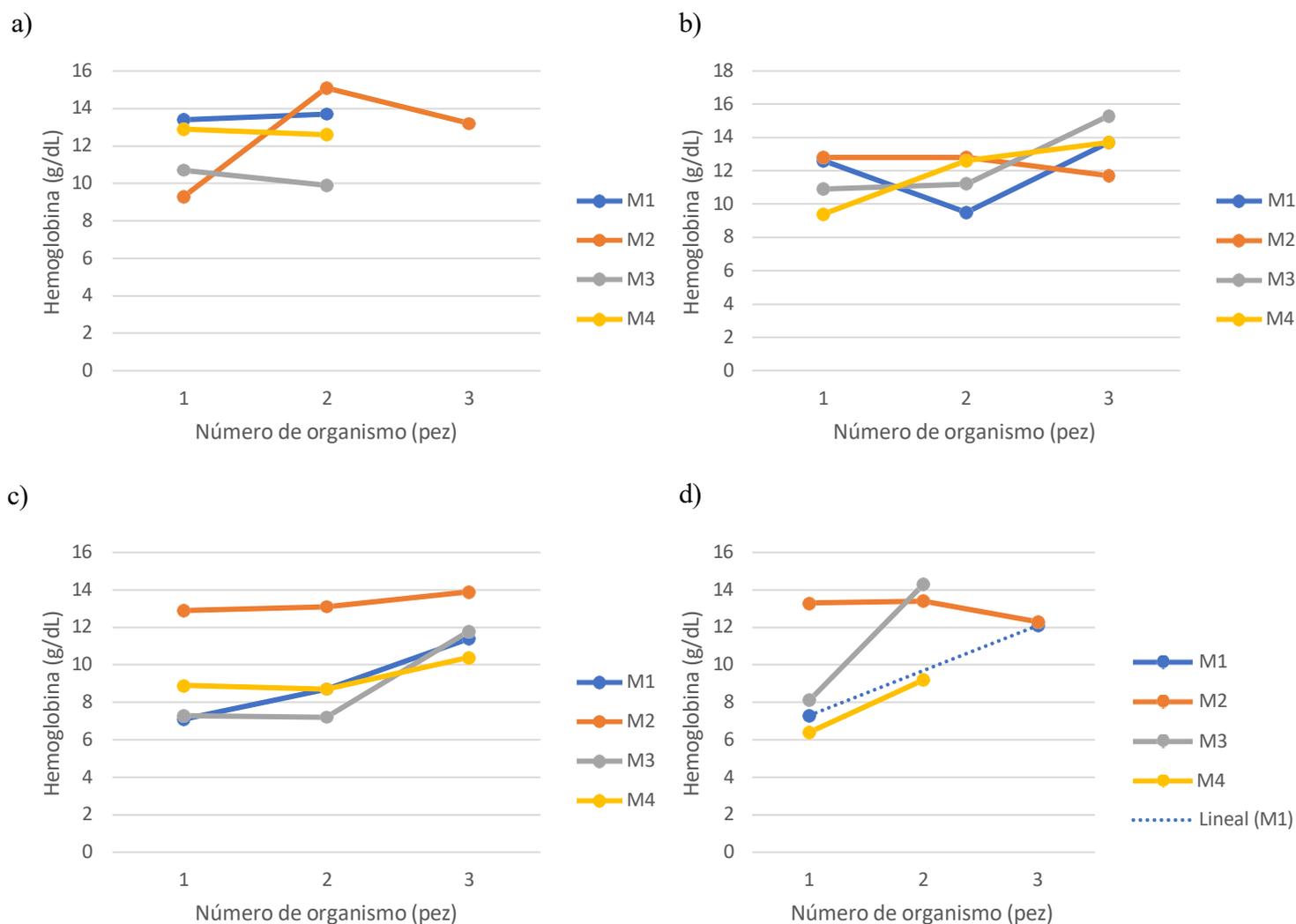


Figura 10. Mediciones de hemoglobina (g/dL) por muestras. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3

El colesterol medido en *Oreochromis*, muestra que el primer muestreo hay una elevación en los grupos experimentos y para las mediciones finales existió un marcado descenso en los valores de colesterol en los grupos B-MP1, C-MP2, D-MP3 en comparación con el grupo control (Figura 11).

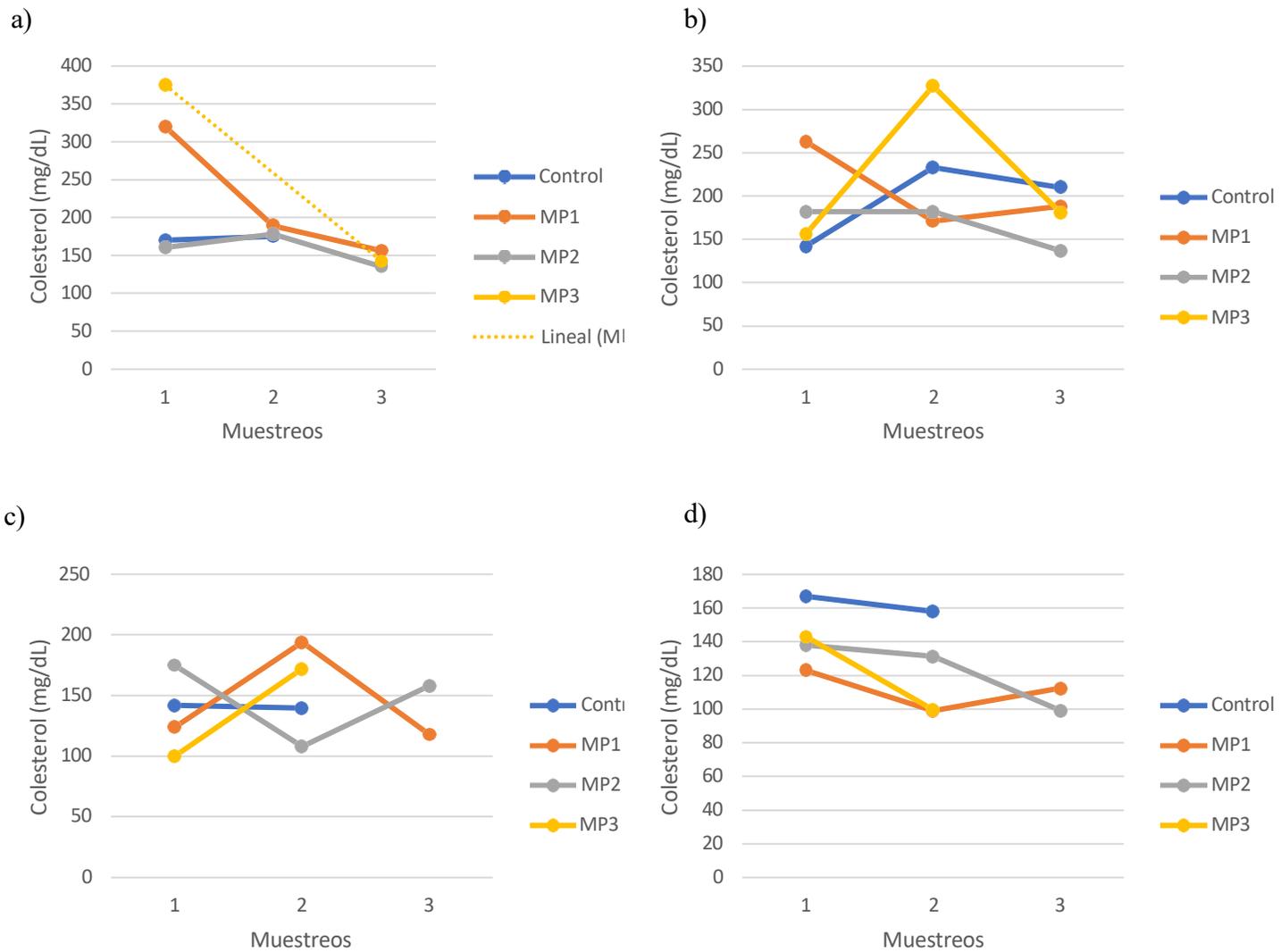


Figura 11. Mediciones de colesterol en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2
c. Muestreo 3 d. Muestreo 4

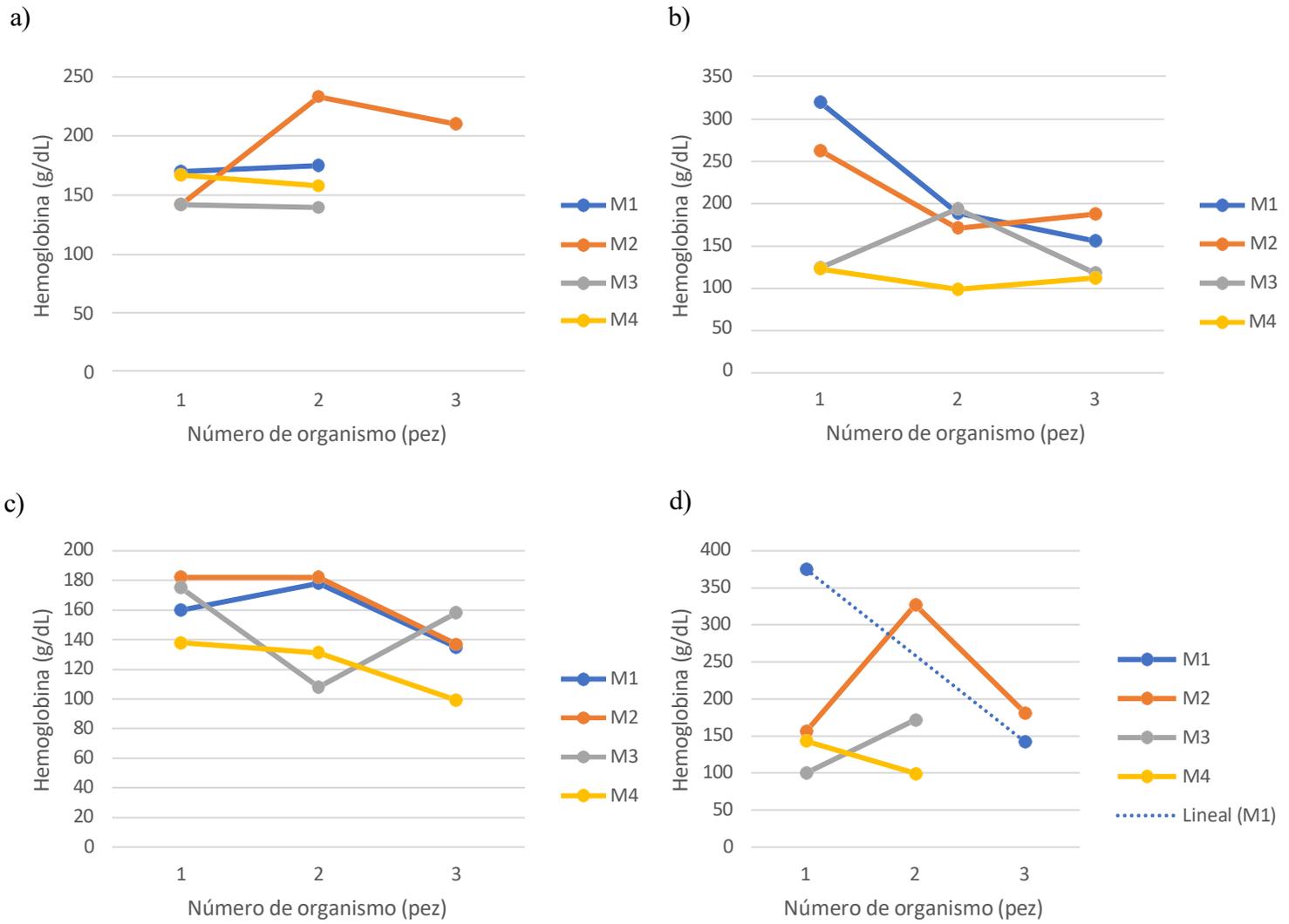
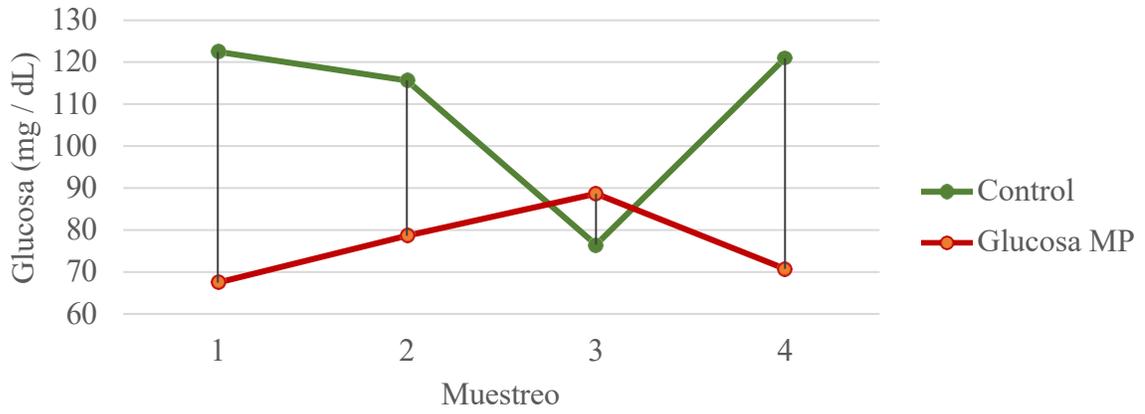


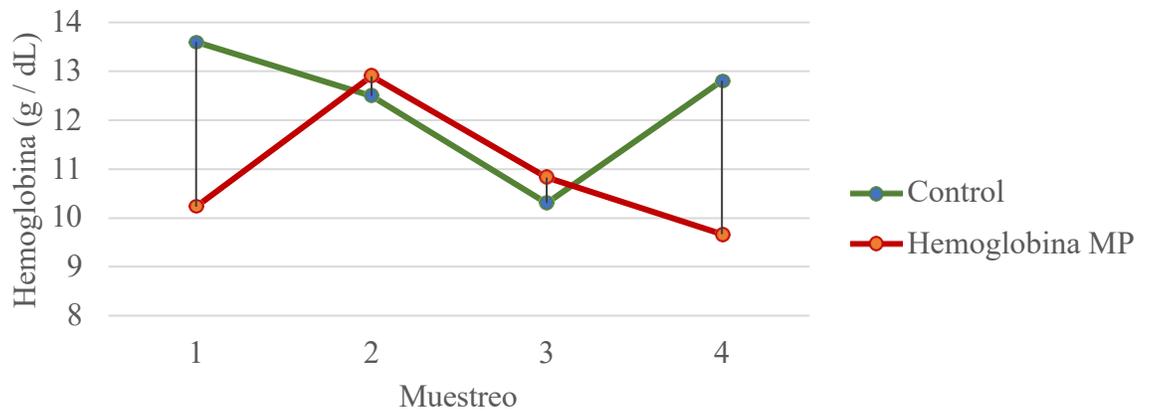
Figura 12. Mediciones de hemoglobina (g/dL) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3

Para los resúmenes (promedios de los muestreos) de las pruebas hematológicas, se observó tomando en cuenta la primera y última medida de la glucosa y hemoglobina, que existe una disminución en los valores comparando con el grupo control; es decir que la ingesta de MP en *Oreochromis* puede influir en la actividad normal de los peces disminuyendo la cantidad de glucosa y hemoglobina en sangre (Figura 13).

a



b



c

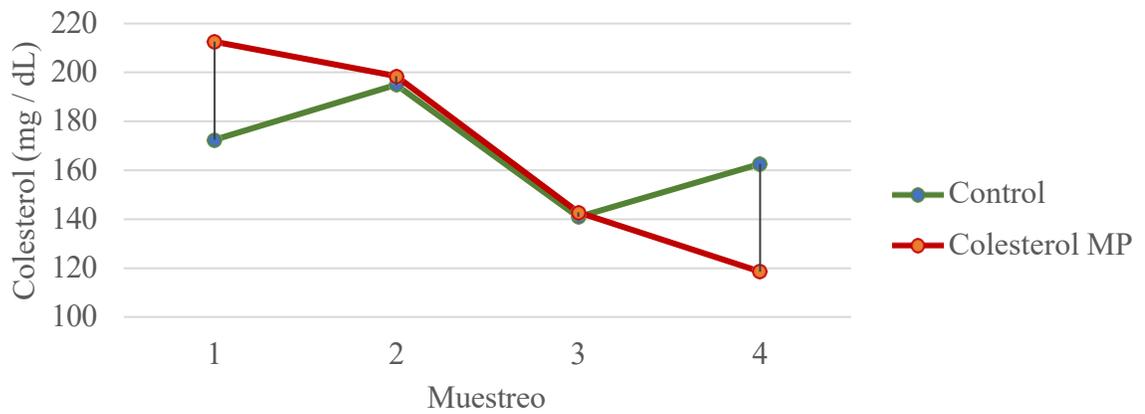


Figura 13. Medidas (promedios) de muestras hematológicas del control y experimentos MP, a. glucosa, b. hemoglobina, c. colesterol.

Para la variable peso se observa el aumento de peso en los cuatro muestreos de grupos experimentos, comparados con el grupo control, lo que demuestra en *Oreochromis* que la cantidad de tiempo e ingesta de MP no fue determinante para causar efectos negativos en los peces. Lo suficiente para establecer que causaría en un futuro posible desnutrición en los peces (Figura 14).

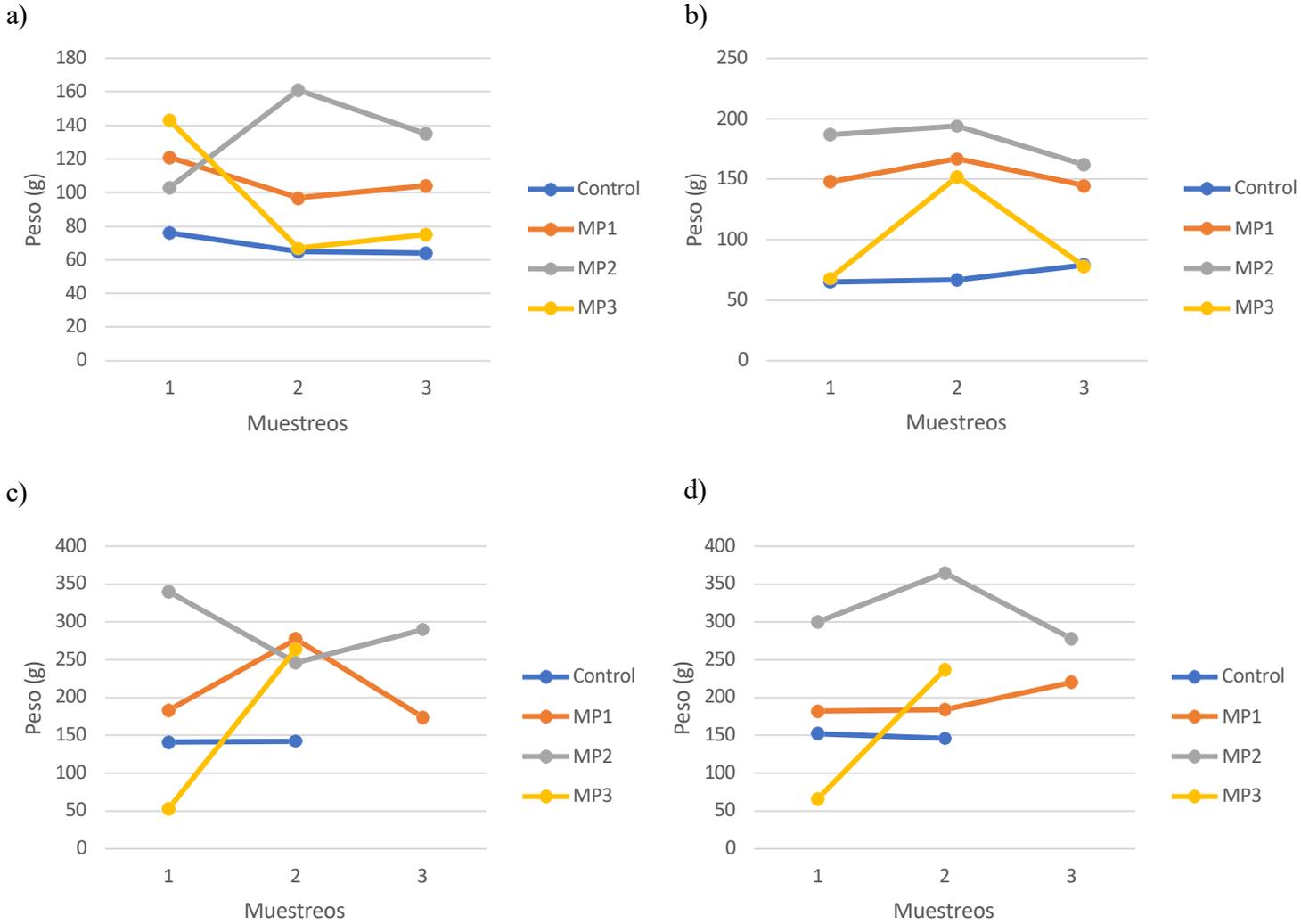


Figura 14. Mediciones de peso (g) en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2
c. Muestreo 3 d. Muestreo 4

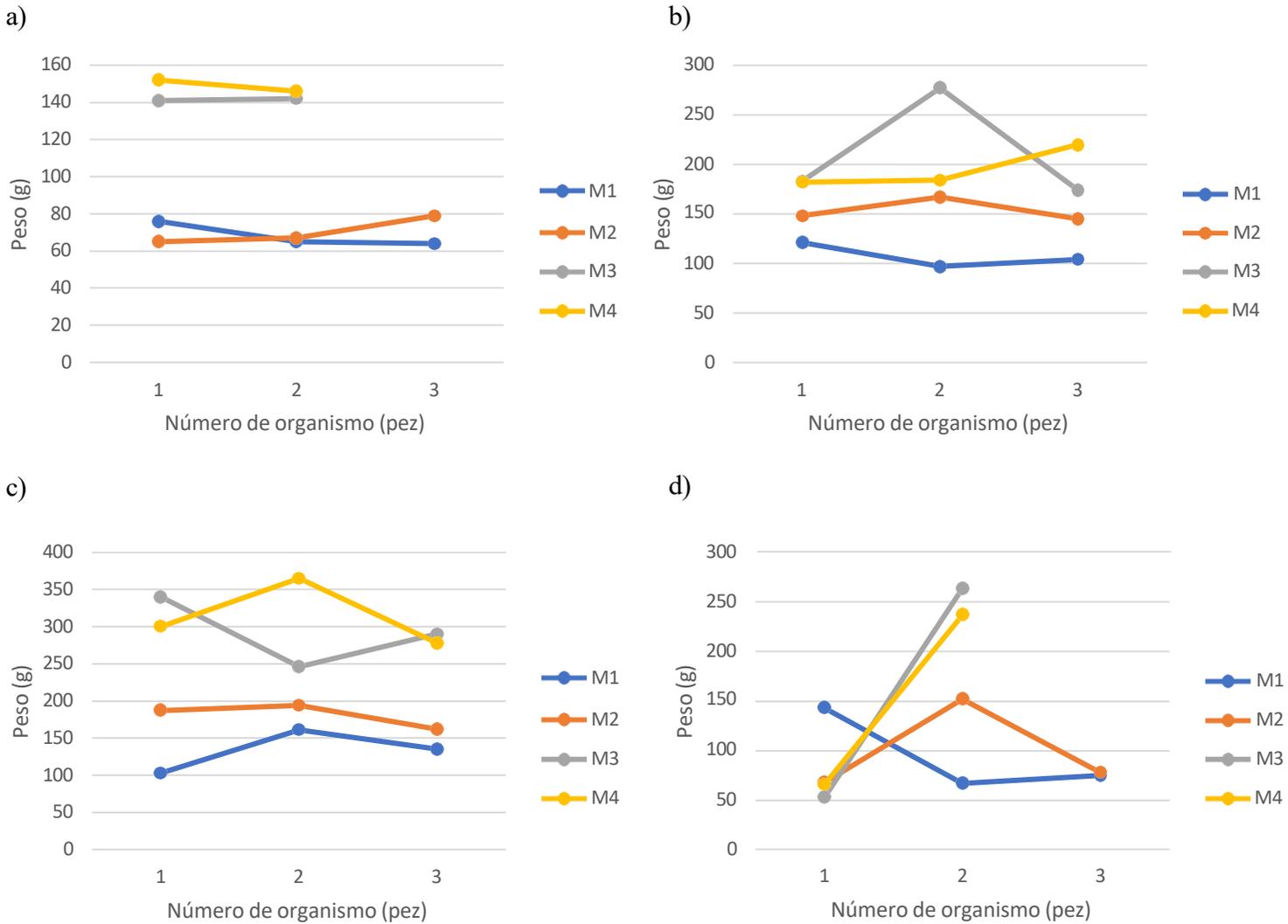


Figura 15. Mediciones de peso (g) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3

El crecimiento de los peces experimentos fue similar al grupo control; en algunos muestreos (1,2,4) hay un incremento en dicha medida. Los peces no muestran una reducción de tamaño, tras la ingesta de MP (Figura 16).

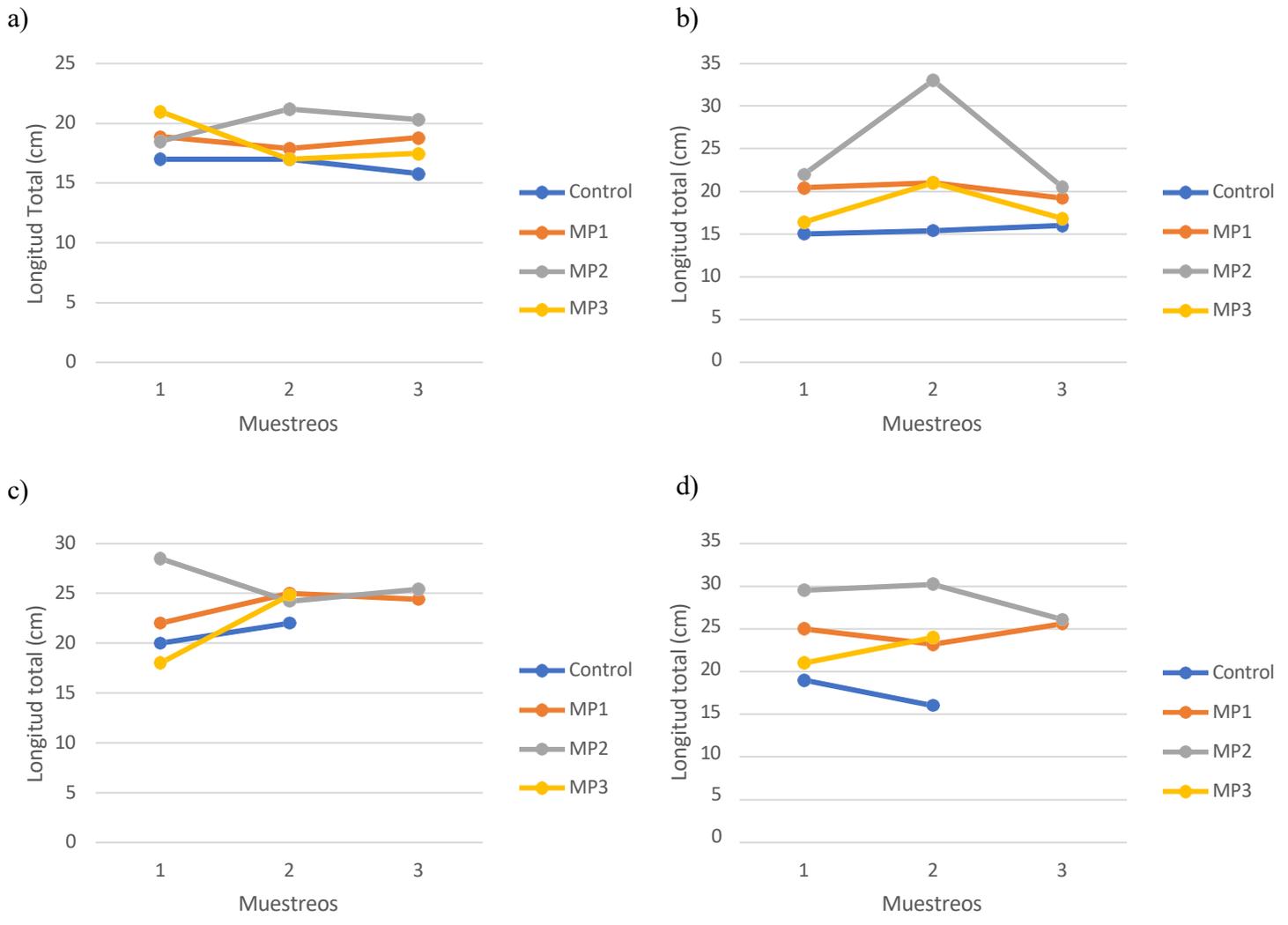


Figura 16. Mediciones de Longitud Total en grupo control y experimentos. a. Muestreo 1 b. Muestreo 2
c. Muestreo 3 d. Muestreo 4

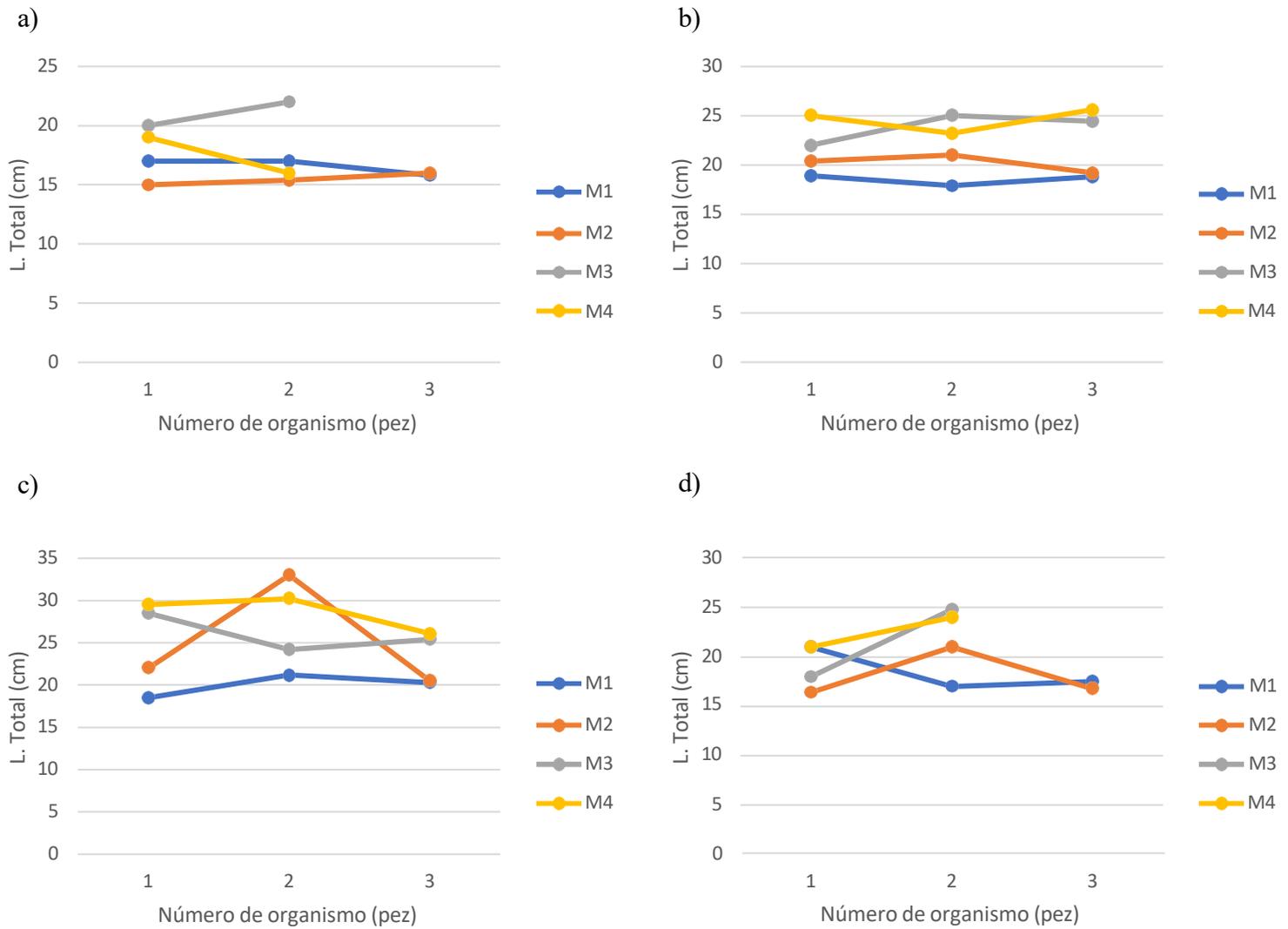
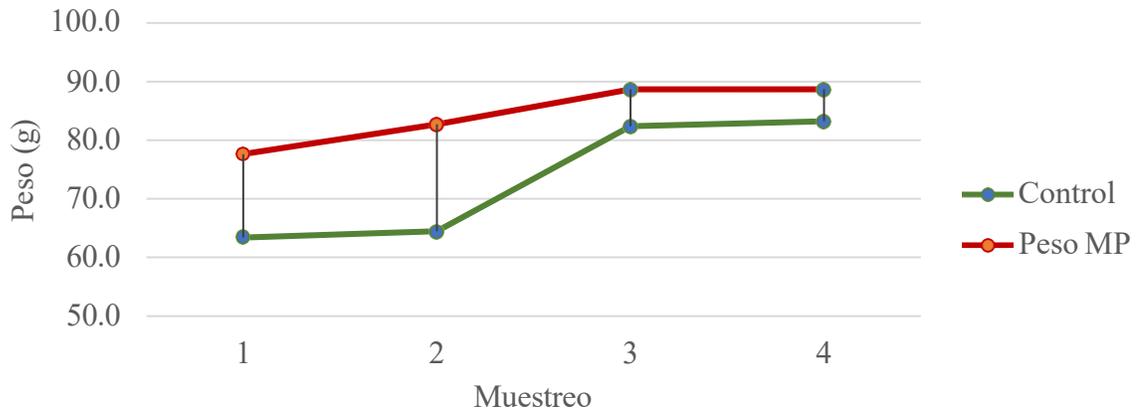


Figura 17. Mediciones de longitud total (cm) por muestreos. a. Grupo Control b. Grupo Experimento B-MP1
 c. Grupo Experimento C-MP2 d. Grupo Experimento D-MP3

a



b

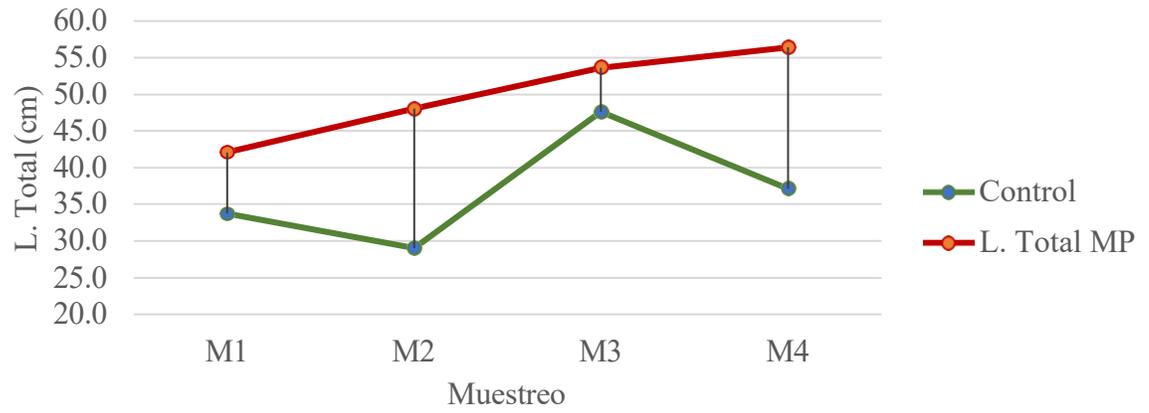


Figura 18. Ganancia en Porcentaje (%), a. peso, b. LT

Observación de Tejido Tegumentario

Cabe destacar que se observó en algunos peces, tras la exposición del microplástico, se generaban lesiones a nivel de su tegumento. En las observación de los peces, una vez presentadas las lesiones tegumentarias, los mismos morían en un corto periodo de tiempo, que abarcaba entre uno a dos días desde observada la lesión(es). Se observó la misma característica en las diferentes peceras de experimento, estos peces en el momento de su muerte presentaban un peso de $135 \text{ g} \pm 4 \text{ g}$ (Figura No19). Según Mbugani et al. 2022, se observó cambios degenerativos en los intestinos de larvas y juveniles de *Oreochromis urolepis*, otros estudios (Fanjul, 2008) demuestran de igual manera el daño al tegumento y escamas en peces.



Figura 19. Lesiones en el tegumento de los peces (*Oreochromis*)

En la disección de los peces, al extraer el sistema digestivo, se analizó el contenido estomacal e intestinal, se presenta en la Figura 20 y Tabla 11, la presencia de las unidades de micropartículas de plástico presentes en el estómago, sin embargo el intestino no se observó ninguna micropartícula de plástico, dicho MP representa una cantidad estimada de 12 ± 6 micropartículas por estómago de pez, que representa un 1.86% de peso aproximado de plástico vs peso de estómago. Se menciona el hallazgo de MP en el sistema digestivo de los peces, autores como Perez et al, 2022, Otero D. 2022, Wu et al, 2020, Buwono *et al*, 2021, entre otros; donde a diferencia de los antes mencionados se ha podido detallar que en este caso solo se encuentran en el estómago; los autores antes mencionados, lo seccionan como forma, color y tipo de plástico de una forma global y generalizada de todo el sistema digestivo del organismo; con el aporte de Romero et al., 2015, donde su estudio demuestra la presencia de microplásticos en los estómagos de peces, con tamaños <5 mm.

La no aparición de micropartículas de plástico en los intestinos, podría estar relacionados a los estudios (Critchell & Hoogenboom, 2018; De Sales-Ribeiro *et al.*, 2020; Jovanović et al., 2018), se observó que los microplásticos son digeridos para luego ser excretados.

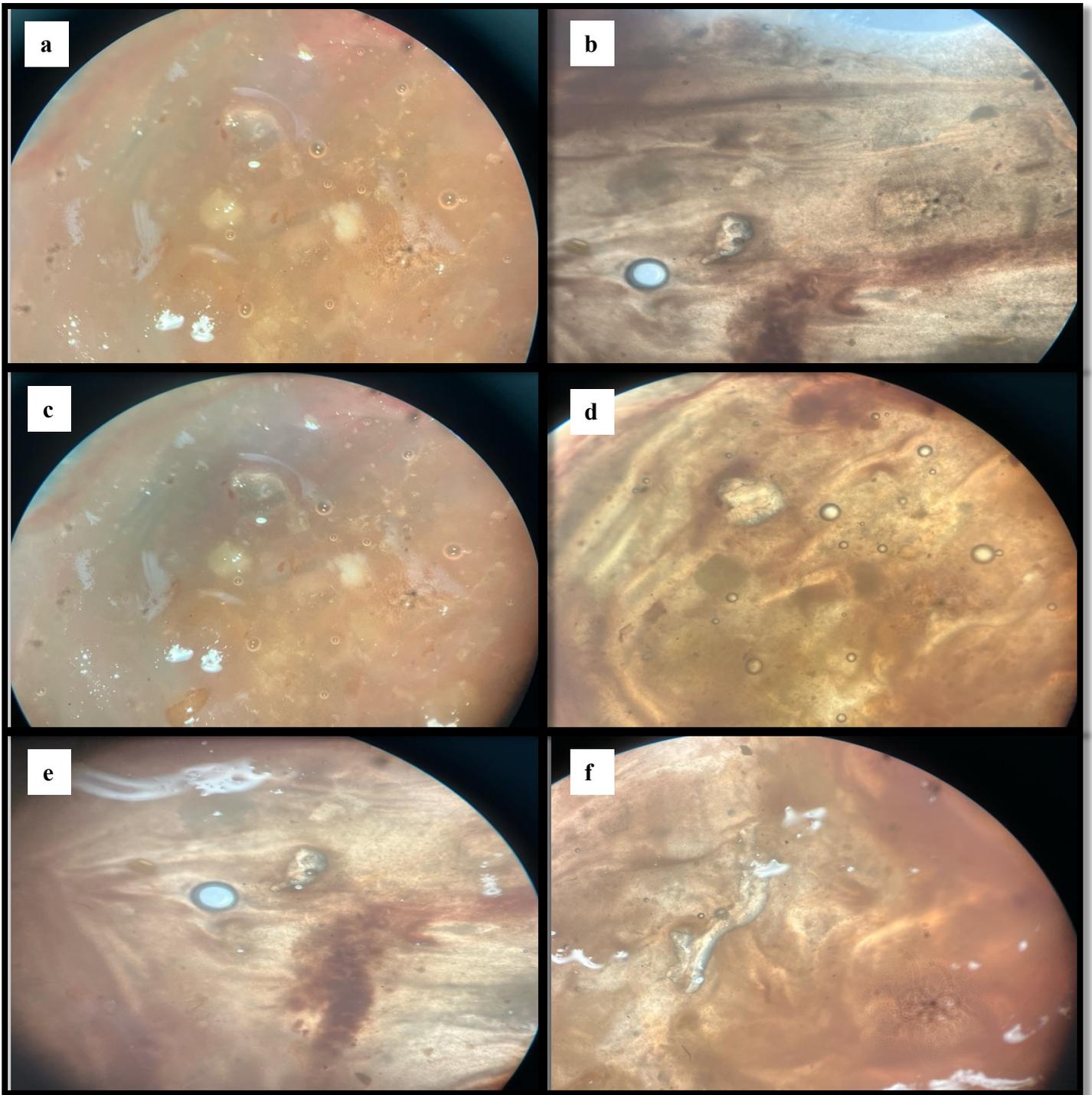


Figura 20. Microplástico en estómago de peces (*Oreochromis*). Vista al estereocopio.

5. CONCLUSIONES

En las medidas morfométricas estudiadas (LT, peso) no se observaron cambios alteración por la ingesta de MP, esto puede ser indicativo que los microplásticos no son un agente que altere las características genéticas del pez. En las medidas hematológicas (glucosa, colesterol, hemoglobina) se observó descenso de los niveles en comparación con el grupo control. En las medidas de la actividad enzimática *In Vitro* (proteasa ácida y alcalina total) no se encontraron diferencias significativas en dichas actividades enzimáticas.

Tras la ingesta de microplástico, los peces en la actividad *In Vitro* no afecta las enzimas proteasas ácidas y básicas totales de *Oreochromis*, esto sugiere que pueda causar otras afectaciones; con esto se demuestra que las enzimas realizar su actividad ante la presencia o no de microplástico.

Existió una variación e inestabilidad en los datos, no hay diferencias en los promedios de las variables analizadas, pero entre las medidas intermedias, existen diferencias que no son aparentes en los valores totales.

Con lo antes mencionado, hay que destacar que en el plazo del estudio realizado, no se presentaron diferencias morfométricas, hematológicas ni de actividades enzimáticas *In Vitro*, entre los experimentos y el control, lo que demuestra que el periodo de dos meses no es tiempo suficiente para determinar si existe o no daños en estas variables; es posible encontrar en un tiempo más prolongado de observación algunas diferencias significativas en las variables. Sin embargo, es notable destacar, las lesiones causadas al tegumento de los peces, observables en las ilustraciones plasmadas.

La cantidad de MP encontrado en los estómagos de peces, no tiene relación con las variables físicas externas e internas.

Se encontraron partículas de microplásticos en el estómago y no en los intestinos, se sugiere que los MP de $30.8 \pm 4.6 \mu\text{m}$ son expulsados por el sistema gastrointestinal.

6. RECOMENDACIONES

Para este tipo de investigaciones, es útil emplear aparatos y/o instrumentos de mayor precisión de medición. De igual manera se recomienda, realizar el estudio en periodos más largos o amplios, que abarquen más tiempo.

Realizar experimentos con diferentes concentraciones de microplásticos, para determinar el cambio, daño o afectación por las concentraciones.

En futuros estudios, no solo determinar la presencia de MP en los sistemas digestivos sino su posible aparición en otros tejidos y analizar su relación con la actividad fisiológica.

Analizar el riesgo toxicológico de los peces con la ingesta de MP en un ecosistema y la posible afectación que pueda causar a los humanos por su consumo.

Para complementar estos estudios, se puede determinar mediante microscopía SEM, los posibles daños que pueden causar en el intestino y estómago de los peces.

Realizar otras pruebas *In Vitro*, no solo relacionadas a las proteasas; sino incluir a las amilasas, lipasas y estererasas, para tener una visión más amplia sobre las alteraciones que pudiesen existir en los peces.

7. REFERENCIAS

- Andrady, A. 2011. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 62: 1596-1605.
- Azzarello, M. & E. Van Vleet. 1987. Marine birds and plastic pollution. *Marine Ecology Progress Series* 37: 295– 305.
- Beaz, Daniel & Villarroel, Morris & Cárdenas, Salvador. (2009). Con la acuicultura alimentamos tu salud. 10.13140/RG.2.1.1235.7847.
- Boerger, C., G. Lattin, S. Moore y C. Moore. 2010. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific central gyre. *Marine Pollution Bulletin* 60: 2275-2278.
- Brandao, M. L., Braga, K. M., & Luque, J. L., 2011. Marine debris ingestion by magellanic penguins, *Spheniscus magellanicus* (Aves: Sphenisciformes), from the Brazilian Coastal Zone. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 2246–2249
- Browne, M.A., Dissanayake, A., Galloway, T.S., Lowe, D.M., & R.C Thompson. 2008. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science & Technology* 42: 5026-5031.
- Clifford DH (1984) Preanesthesia, anesthesia, analgesia, and euthanasia. In: *Laboratory Animal Medicine* (Fox JG, Cohen BJ, Loew FM, eds.). Orlando: Academic Press, pp 527-62
- Cole M, Lindeque P, Halsband C, & TS. Galloway. 2011 Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Marine Pollution Bulletin* 62: 2588-2597
- Critchell, K., & Hoogenboom, M. O. (2018). Effects of microplastic exposure on the body condition and behaviour of planktivorous reef fish (*Acanthochromis polyacanthus*). *PLOS ONE*, 13(3), e0193308. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0193308>
- De Sales-Ribeiro, C., Brito-Casillas, Y., Fernandez, A., & Caballero, M. J. (2020). An end to the controversy over the microscopic detection and effects of pristine

microplastics in fish organs. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 1–19.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-69062-3>

Fanjul, M. L. (2008), “Homeostasis y adaptación”, en: M. L. Fanjul y M. Hiriart (eds.), *Biología funcional de los animales*, vol. I, 2.a ed., México, Siglo XXI, pp. 15-26.

Fossi, M.C., Panti, C., Guerranti, C., Coppola, D., Giannetti, M., Marsili, L., & R. Minutoli. 2012. Are baleen whales exposed to the threat of microplastics? A case study of the Mediterranean fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Marine Pollution Bulletin* 64: 2374–2379.

Fossi, M.C., Coppola, D., Baini, M., Giannetti, M., Guerranti, C., Marsili, L., Panti, C., Sabata, E., & S. Clo. 2014. Large filter feeding marine organisms as indicators of microplastic in the pelagic environment: the case studies of the Mediterranean basking shark (*Cetorhinus maximus*) and fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Marine Environmental Research* 100: 17-24.

GESAMP. 2015. “Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment”. (Kershaw, P. J., ed.). (IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/ UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection), Rep. Stud. GESAMP No. 90, 96 p.

Góngora, J. (2014). La industria del plástico en México y el mundo. *Comercio Exterior*, 64(5), 6–9. Retrieved from http://revistas.bancomext.gob.mx/rce/magazines/761/3/la_industria_del_plastico.pdf

Kukulka, T., Proskurowski, G., Morget-Ferguson, S., Meyer, D. W., & K.L. Law. 2012. The effect of wind mixing on the vertical distribution of buoyant plastic debris. *Geophysical Research Letters* 39: 1–6.

- Hall, N. M. et al. 2015. 'Microplastic ingestion by scleractinian corals', *Marine Biology*, 162(3), pp. 725–732. doi: 10.1007/s00227-015-2619-7.
- Hodkovicova N., A. Hollerova, H. Caloudova, J. Blahova, A. Franc, M. Garajova, J. Lenz, F. Tichy, M. Faldyna, P. Kulich, J. Mares, R. Machat, V. Enevova, Z. Svobodova. 2021. Do foodborne polyethylene microparticles affect the health of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)?, *Science of The Total Environment*. 793. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148490>
- Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., Law, K.L. 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347, 768-770.
- Jovanović, B. (2017). Ingestion of microplastics by fish and its potential consequences from a physical perspective. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 13(3), 510–515. <https://doi.org/10.1002/IEAM.1913>
- Kim, S. W., Chae, Y., Kim, D., & An, Y. J. (2019). Zebrafish can recognize microplastics as inedible materials: Quantitative evidence of ingestion behavior. *Science of The Total Environment*, 649, 156–162. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.08.310>
- Laist, D.W., 1987. Overview of the biological effects of lost and discarded plastic debris in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 18: 319–326.
- Laist, D.W., 1997. Impacts of marine debris: entanglement of marine life in marine debris including a comprehensive list of species with entanglement and ingestion records. In: Coe, J.M., Rogers, D.B. (Eds.), *Marine Debris Sources, Impacts and Solutions*. Springer- Verlag, New York, 99–139.
- Lavender K., & Thomason R. 2014. Microplastics in the seas. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.1254065>

- Lazzaro, X. 1987. A review of planktivorous fish: Their evolution, feeding behaviour, selectivities and impacts. *Hydrobiologia* 146: 97–167.
- Li J., Qu X., Su L., Zang W., Yang D., Kolandhasamy P., Li D. & Shi H. 2016. Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environmental Pollution*. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.012>
- Li W.C., Tse H.F. & Fok L., 2015. Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. *Science of the Total Environment* 566–567, 333–349
- Lönnstedt, O.M., Eklöv, P. 2016. Environmentally relevant concentrations of microplastic particles influence larval fish ecology. *Science* 352 (6290), 1213– 1216. doi: 10.1126/science. aad8828
- Lusher, A.L., Hernandez-Milian, G., O'Brien, J., Berrow, S., O'Connor, I., Officer, R. (2015). Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: The True's beaked whale *Mesoplodon mirus*. *Environmental Pollution* 199,185-191.
- Lusher, A. L., McHugh, M., & Thompson, R. C., 2013. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Marine Pollution Bulletin*, 67, 94–99.
- Mallory, M.L., 2008. Marine plastic debris in northern fulmars from the Canadian high Arctic. *Marine Pollution Bulletin* 56: 1501–1504.
- Mascarenhas, R., Santos, R., & D. Zeppelini. 2004. Plastic debris ingestion by sea turtle in Paraiba, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 49: 354–355.
- Mbugani, John J., John F. Machiwa, Daniel A. Shilla, Wahabu Kimaro, Dativa Joseph, and Farhan R. Khan. 2022. "Histomorphological Damage in the Small Intestine of Wami Tilapia (*Oreochromis urolepis*) (Norman, 1922) Exposed to Microplastics

Remain Long after Depuration" *Microplastics* 1, no. 2: 240-253.
<https://doi.org/10.3390/microplastics1020017>

Mohamed Hamed, Hamdy A.M. Soliman, Alaa G.M. Osman, Alaa El-Din H. Sayed.
Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile: I. blood biomarkers, *Chemosphere* 228, 345 – 350.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.153>.

Moore, C.J., 2008. Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long term threat. *Environmental Research* 108: 131–139.

Neves, D., Sobral, P., Ferreira, J. L., & T. Pereira. 2015. Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin* 30: 1-8.

Palanisamy, Satheesh Kumar & Ananthan, Ganakkan & Kumar, D. & Jagadeesan, L. 2011. Haematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary, India. *Comparative Haematology International - COMP HAEMATOL INT.* 21. 1-5. [10.1007/s00580-011-1259-7](https://doi.org/10.1007/s00580-011-1259-7).

Quayle, D. 1992. Plastics in the marine environment: problems and solutions. *Chemical Ecology* 6: 69–78.

Rochman, C Tahir, A. Williams, S., Baxa, D. Lam, R. Miller, J., Teh, F., Werorilangi S., & S. Teh. 2015. Anthropogenic debris in seafood: Plastic debris and fibers from textiles in fish and bivalves sold for human consumption. *Scientific Report* 5:1-10.

R.S. Kulkarni, "Hematology of the Freshwater Fish, *Notopterus notopterus* in Relation to Physico-Chemical Characteristics of the Water". 2015. *International Letters of Natural Sciences*, Vol. 40, pp. 19-23.

8. ANEXOS

Tabla 12. Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control (Muestreo 1)

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|----------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Control | 125 | 13.4 | 170 |
| | 120 | 13.7 | 175 |
| \bar{x} | 122.5 | 13.6 | 172.5 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| B | 84 | 12.6 | 320 |
| MP1 | 49 | 9.5 | 189 |
| | - | 13.7 | 156 |
| \bar{x} | 104.7 | 11.9 | 221.7 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| C | 30 | 7.1 | 160 |
| MP2 | 40 | 8.7 | 178 |
| | 74 | 11.4 | 135 |
| \bar{x} | 48.0 | 9.1 | 157.7 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| D | 68 | 7.3 | 375 |
| MP3 | 31 | - | - |
| | 50 | 12.1 | 142 |
| \bar{x} | 49.7 | 9.7 | 258.5 |

Tabla 13. Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control (Muestreo 2)

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|----------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 55 | 9.3 | 142 |
| Control | 206 | 15.1 | 233 |
| | 86 | 13.2 | 210 |
| \bar{x} | 115.7 | 12.5 | 195 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| B | 84 | 12.8 | 263 |
| MP1 | 133 | 12.8 | 171 |
| | 68 | 11.7 | 188 |
| \bar{x} | 95.0 | 12.4 | 207.3 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| C | 92 | 12.9 | 182 |
| MP2 | 96 | 13.1 | 182 |
| | 104 | 13.9 | 137 |
| \bar{x} | 97.3 | 13.3 | 167.0 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| D | 40 | 13.3 | 156 |
| MP3 | 63 | 13.4 | 327 |
| | 28 | 12.3 | 181 |
| \bar{x} | 43.7 | 13.0 | 221.3 |

Tabla 14. Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control (Muestreo 3)

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|----------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 78 | 10.7 | 142 |
| Control | 75 | 9.9 | 139.7 |
| \bar{x} | 76.5 | 10.3 | 140.85 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| B | 50 | 10.9 | 124 |
| MP1 | 59 | 11.2 | 194 |
| | 70 | 15.3 | 118 |
| \bar{x} | 59.7 | 12.5 | 145.3 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| C | 91 | 7.3 | 175 |
| MP2 | 90 | 7.2 | 108 |
| | 99 | 11.8 | 158 |
| \bar{x} | 93.3 | 8.8 | 147.0 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| D | 85 | 8.1 | 100 |
| MP3 | 141 | 14.3 | 172 |
| \bar{x} | 113.0 | 11.2 | 136.0 |

Tabla 15. Parámetros Hematológicos de muestras experimentales y control (Muestreo 4)

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|----------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Control | 122 | 12.9 | 167 |
| | 120 | 12.6 | 158 |
| \bar{x} | 121.0 | 12.8 | 162.5 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| B | 78 | 9.4 | 123 |
| MP1 | 65 | 12.6 | 99 |
| | 101 | 13.7 | 112.3 |
| \bar{x} | 81.3 | 11.9 | 111.4 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| C | 66 | 8.9 | 138 |
| MP2 | 56 | 8.7 | 131.2 |
| | 89 | 10.4 | 99.2 |
| \bar{x} | 70.3 | 9.3 | 122.8 |

| Pecera | Glucosa (mg/dL) | Hemoglobina (g/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|---------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| D | 67 | 6.4 | 143.1 |
| MP3 | 54 | 9.2 | 99.6 |
| \bar{x} | 60.5 | 7.8 | 121.4 |

Tabla 16. Datos Biométricos de muestras experimentales y control (Muestreo 1)

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|----------------|-----------------|----------------------------|
| | 76 | 17 |
| Control | 65 | 17 |
| | 64 | 15.8 |
| \bar{x} | 68.3 | 16.6 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| B MP1 | 121 | 18.9 |
| | 97 | 17.9 |
| | 104 | 18.8 |
| \bar{x} | 107.3 | 18.5 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| C MP2 | 103 | 18.5 |
| | 161 | 21.2 |
| | 135 | 20.3 |
| \bar{x} | 133.0 | 20.0 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| D MP3 | 143 | 21 |
| | 67 | 17 |
| | 75 | 17.5 |
| | \bar{x} | 95.0 |

Tabla 17. Datos Biométricos de muestras experimentales y control (Muestreo 2)

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|----------------|-----------------|----------------------------|
| | 65 | 15 |
| Control | 67 | 15.4 |
| | 79 | 16 |
| \bar{x} | 70.3 | 15.5 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| B MP1 | 148 | 20.4 |
| | 167 | 21 |
| | 145 | 19.2 |
| \bar{x} | 153.3 | 20.2 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| C MP2 | 187 | 22 |
| | 194 | 33 |
| | 162 | 20.5 |
| \bar{x} | 181.0 | 25.2 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| D MP3 | 68 | 16.4 |
| | 152 | 21 |
| | 78 | 16.8 |
| \bar{x} | 99.3 | 18.1 |

Tabla 18. Datos Biométricos de muestras experimentales y control (Muestreo 3)

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|----------------|-----------------|----------------------------|
| Control | 141 | 20 |
| | 142 | 22 |
| \bar{x} | 141.5 | 21.0 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| B MP1 | 183 | 22 |
| | 277 | 25 |
| | 174 | 24.4 |
| \bar{x} | 211.3 | 23.8 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| C MP2 | 340 | 28.5 |
| | 246 | 24.2 |
| | 290 | 25.4 |
| \bar{x} | 292.0 | 26.0 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|---------------|-----------------|----------------------------|
| D | 53 | 18 |
| MP3 | 264 | 24.8 |
| \bar{x} | 158.5 | 21.4 |

Tabla 19. Datos Biométricos de muestras experimentales y control (Muestreo 4)

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|----------------|-----------------|----------------------------|
| Control | 152 | 19 |
| | 146 | 16 |
| \bar{x} | 149.0 | 17.5 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| B MP1 | 182 | 25 |
| | 184 | 23.2 |
| | 220 | 25.6 |
| \bar{x} | 195.3 | 24.6 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| C MP2 | 300 | 29.5 |
| | 365 | 30.2 |
| | 278 | 26.1 |
| \bar{x} | 314.3 | 28.6 |

| Pecera | Peso (g) | LT (longitud total) |
|------------------|-----------------|----------------------------|
| D MP3 | 66 | 21 |
| | 237 | 24 |
| \bar{x} | 151.5 | 22.5 |

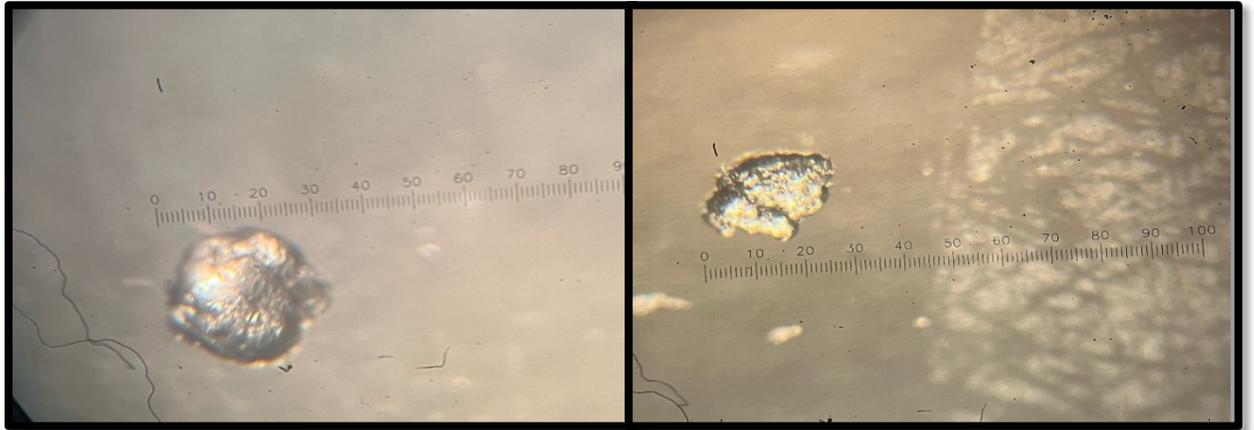


Figura 22. Mediciones de Micropartículas de plástico (medidos en microscopio euromex holland).



Figura 21. Toma de medidas de longitud estándar (LT)

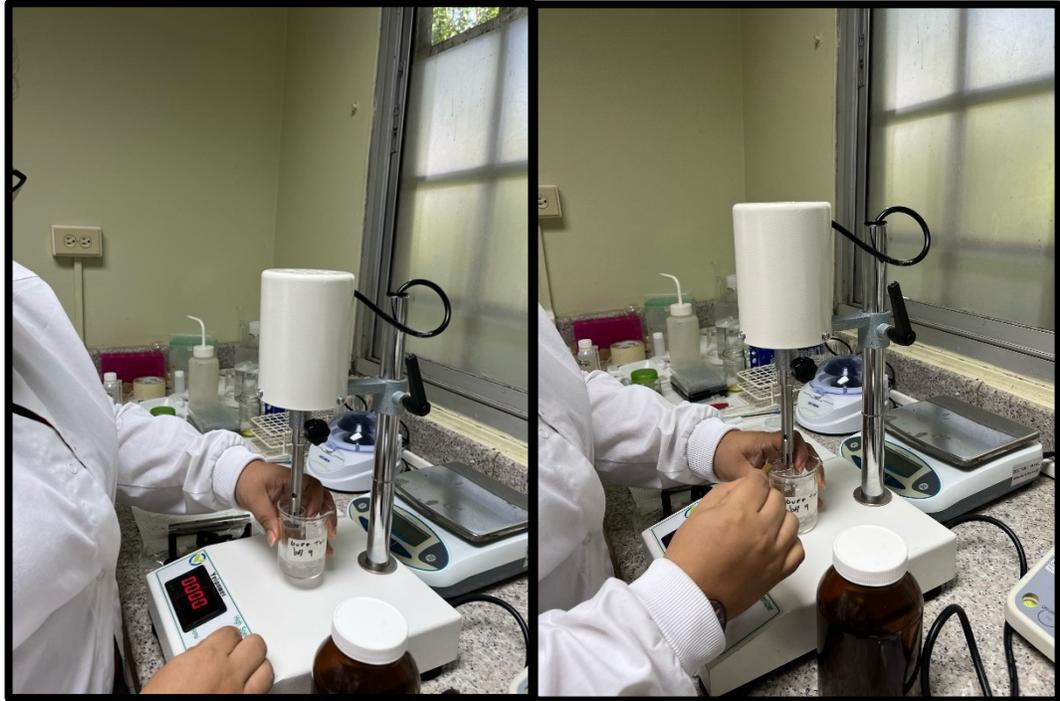


Figura 24. Preparación de extractos (enzimas) de estómagos e intestinos utilizando un mezclador de dispersión emulsionante de homogeneizador [Yeipower Homogeneizador de alta velocidad 1000 ~ 22000 rpm 5 ~ 33.8 fl oz FSH-2C Versión actualizada (110V)]



Figura 23. Toma de muestras hematológicas de vena caudal y mediciones



Figura 25. Proceso de aclimatación de peces

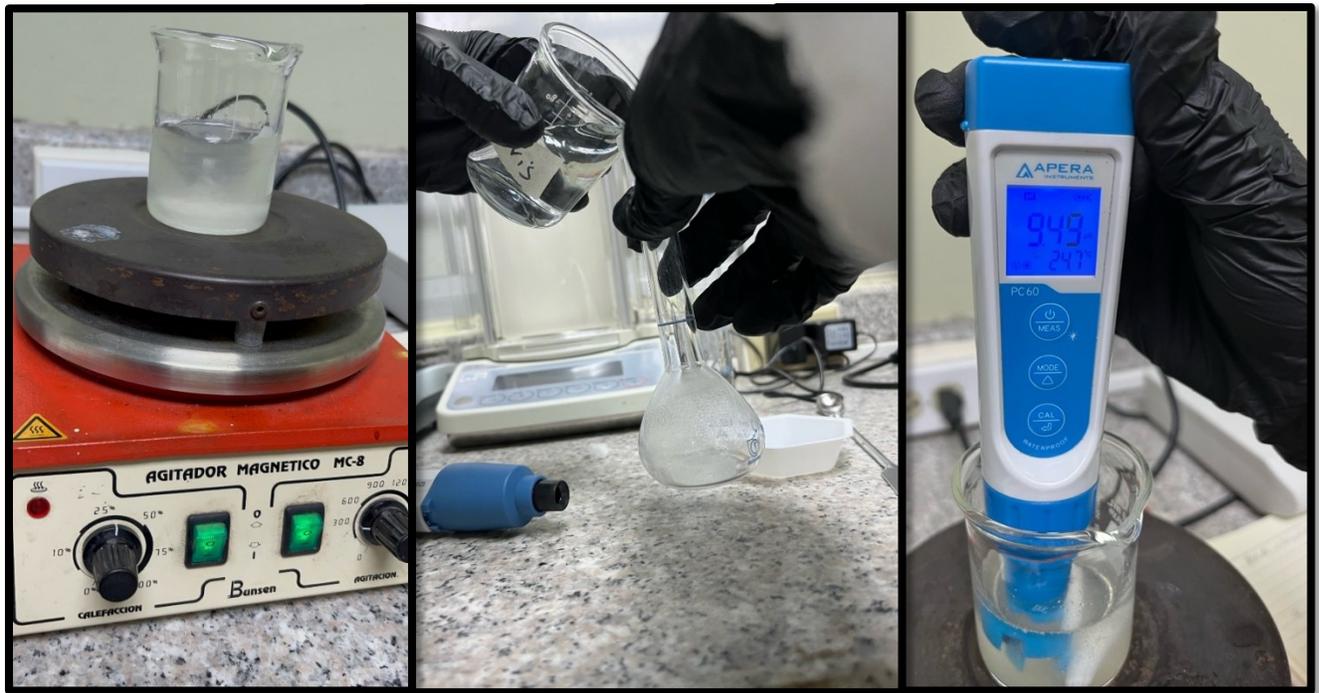


Figura 26. Preparación de sustancias para la actividad proteasa



Figura 27. Preparación de eppendorf para las actividades proteasas alcalinas y ácidas totales

David, 07 de abril de 2025.

Señores

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN BIOLOGÍA

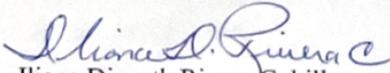
Presente:

El(la) suscrito(a) certifica que, a la estudiante, Ana Patricia Samudio Miranda con cédula:
4 – 750 – 1756 se le ha revisado el trabajo de graduación para optar por el título de Maestría
en Biología titulado:

**EFFECTOS DE LOS MICROPLÁSTICOS EN LA FISIOLOGÍA DIGESTIVA DE
*Oreochromis sp***

Por lo que, se garantiza que el trabajo cumple con todas las exigencias redacción y
ortografía del idioma español.

Atentamente,


Iliana Dianeth Rivera Cubilla

Profesor(a) de Español

Cédula: 4-137-1698

Adjunto: Copia del Diploma.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ

LA FACULTAD DE

Humanidades

EN VIRTUD DE LA POTESTAD QUE LE CONFIEREN LA LEY Y EL ESTATUTO UNIVERSITARIO
HACE CONSTAR QUE



Miara Dianeth Rivera Tubilla

HA TERMINADO LOS ESTUDIOS DE MAESTRÍA Y CUMPLIDO CON LOS REQUISITOS
QUE LE HACEN ACREEDOR AL TÍTULO DE

*Magister en Lingüística Aplicada con Especialización
en Redacción y Corrección de Textos*

Y EN CONSECUENCIA, SE LE CONCEDE TAL GRADO CON TODOS LOS DERECHOS, HONORES
Y PRIVILEGIOS RESPECTIVOS. EN TESTIMONIO DE LO CUAL SE LE EXPIDE ESTE DIPLOMA,
EN LA REPÚBLICA DE PANAMÁ, A LOS *veinticuatro* DÍAS DEL MES DE
abril DEL AÑO DOS MIL *quince*.

Alfonso E. Quiroz
Rector(a)

Dipoma - 32584-

Identificación Personal 4-137-1698

Alfonso E. Quiroz
Decano(a)

Alfonso E. Quiroz
Vicerrector(a)
de Investigación y Progreso

Estelina M. de Romera
Rector(a)