



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

***Evaluación de las posibles alteraciones
en la ultraestructura muscular esquelética de la Tilapia
(Oreochromis mossamlicus) del Lago de Valencia
(Edos. Aragua y Carabobo) como efecto de los impactos antrópicos***

Tesis Especial de Grado en Tecnología de Alimentos

Presentado ante la ilustre
Universidad Central de Venezuela,
por el bachiller Alfredo Duplat
como requisito parcial para optar al título de
Licenciado en Biología

Tutor: Marinela Barrero M., PhD

CARACAS, VENEZUELA

Febrero-2011

I. INTRODUCCIÓN

El Lago de Valencia se encuentra situado en el centro norte de Venezuela, intercalado entre el ramal de la costa y el ramal del interior de la cordillera central aproximadamente entre los 67° 36' y 67° 53' de longitud oeste, 10° 06' y 10° 16' de latitud norte y su hoya abarca territorialmente parte de los estados Aragua y Carabobo (Luengo, 1963; Nuñez y Weibezahn, 1986). Debido a la densidad poblacional humana y a la cercanía de varias industrias, que vierten sus deshechos al lago, se vienen contaminando sus aguas y su fauna. Las características físicas y químicas de las aguas afectan la distribución y abundancia de los organismos planctónicos, los cuales, a su vez, sirven de alimento a los organismos nectónicos (peces) en las tramas tróficas acuáticas. De esta manera, los organismos planctónicos representan un papel central en la dinámica de los ecosistemas acuáticos (Esteves, 1998). Así mismo, los deshechos que contienen metales pesados que son vertidos al lago o sus afluentes se distribuyen en las aguas y luego son acumulados en los peces. En las últimas décadas, existe un interés creciente en la determinación de metales pesados en los componentes acuáticos y especialmente en los peces de consumo humano. Estas mediciones sirven para el establecimiento de estándares públicos de salud pública y la protección de los sistemas acuáticos (Filazi y col., 2003).

II. ANTECEDENTES

La caracterización limnológica de los embalses, es una herramienta fundamental para el diseño de políticas de manejo y conservación de los lagos y embalses (Infante, 1999; Páez y col., 2001). Venezuela cuenta con más de 50 embalses (Ginez y Olivo. 1984) empleados para propósitos diversos, tales como la generación de energía hidroeléctrica, el riego con fines agrícolas, el suministro de agua potable a la población, el control de inundaciones y la recreación. Esta variedad de usos hace necesario un conocimiento del funcionamiento de estos ecosistemas, para así lograr un aprovechamiento racional de ellos (Infante, 1997; 1998). Aun cuando el número de estudios de los cuerpos de agua venezolanos se ha incrementado en los últimos años, sólo se tiene algún tipo de información limnológica de un bajo número de ellos (López y col. 2001).

El Lago de Valencia es un cuerpo de agua expuesto a un fuerte proceso de contaminación como consecuencia del débil recambio de agua y el contacto directo con las actividades humanas e industriales desarrolladas en sus márgenes y cuenta con innumerables estudios de sus características limnológicas, siendo los más recientes los relacionados con la distribución del zooplancton y la determinación de la producción primaria del fitoplancton (Infante, 1998), así como, los referentes a la distribución espacial y variación estacional del contenido de los metales pesados en aguas y peces del Lago de Valencia (Benítez, 2010).

En el año 1959 se importaron las primeras tilapias, procedentes de Trinidad, las cuales fueron sembradas en cuerpos de agua del centro y sur del país, utilizándose principalmente como peces forrajeros para otras especies ictiófagas (Capecchi, 1994), pero el cultivo comenzó, en forma legal, en 1992, cuando se aprobó la entrada de estas especies en el país mediante resolución conjunta del Ministerio de Agricultura y Cría y el Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales Renovables (MAC 152/MARNR 66, 1992) con la intención de reglamentar la introducción y posterior manejo de las especies *Oreochromis niloticus*, *O. aureus*, *O. hornorum* y *Sarotherodon galileus*, así como de sus híbridos (SARPA, 1995). Estas normas fueron derogadas el 06/07/1997 y sustituidas por la resolución conjunta del Ministerio de Agricultura y Cría N° 117/Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables, Despacho del Ministro N° 70, publicada en Gaceta Oficial N° 36.204 del 13/05/1998. El resultado fue que la actividad tilapicultora se acentuó sustancialmente, lo que se evidencia en las estadísticas de producción por acuicultura que indican un incremento de 4tm en 1990 a 1.655tm en 1995 (FAO, 1997). Para 1998 la producción había sobrepasado las 2.000 tm y se habían establecido unas 200 granjas tilapicultoras en el territorio venezolano (Jory y col., 1999). La introducción de este pez al Lago de Valencia, sin haber tomado en cuenta el impacto ecológico que podía causar, sumado a la creciente contaminación del agua y a la elevada densidad poblacional en sus márgenes, es el que posiblemente ha originado la disminución drástica de la diversidad íctica, que para el año de 1963 era de 37 especies, de las cuales 7 presentaban carácter endémico (Luengo, 1963).

Las tilapias se adaptan fácilmente a las condiciones de los diversos cuerpos de agua en que han sido introducidos, tales como arroyos, ríos, lagos, lagunas, presas, estanques, estuarios e incluso hábitats marinos. Aceptan con facilidad diferentes tipos de alimento, tanto los producidos naturalmente como los alimentos artificiales (derivados de subproductos agrícolas), adicionalmente, las tilapias toleran concentraciones de oxígeno bastante bajas, su requerimiento mínimo es de 1 mg L⁻¹, pH entre 6 y 9, lo que les permite competir con ventajas sobre otras especies (Poot, 2010)

CLASIFICACIÓN DE LA ESPECIE

Clase: Perciformes

Suborden: Percoides

Familia: Cichlidae

Genero: *Oreochromis*

Especie: *Oreochromis mossambicus*

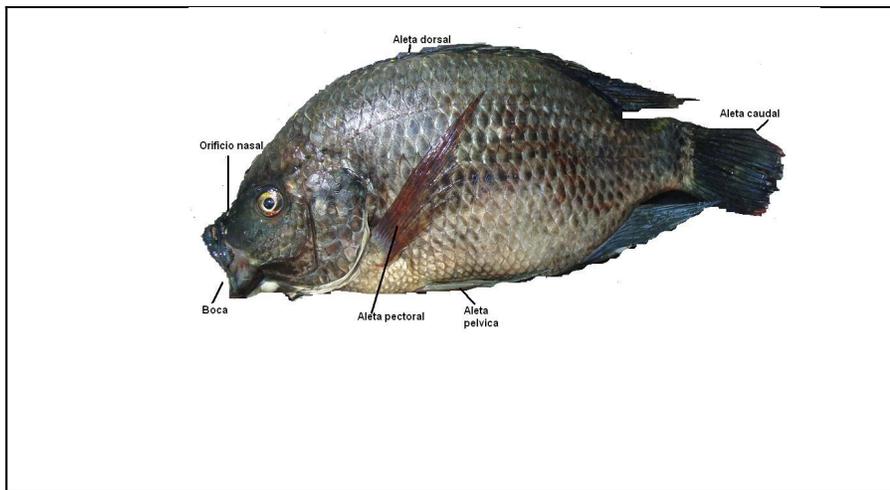


Figura 1. Partes anatómicas externas de la tilapia

Los machos reproductores presentan una coloración azul brillante en la cabeza, extendiéndose al cuerpo en un azul gris pálido metálico. Como característica distintiva, en las aletas presenta una coloración rojiza muy tenue y al igual que en la aleta dorsal y caudal respectivamente, con peso aproximado de 700 gr a los 7 meses de edad. Las hembras tienen una similitud en la coloración con los machos excepto el tamaño a los 7 meses pueden pesar 450 grs todo va depender de la alimentación, en el caso de las hembras dirigen el gasto de energía a la producción de huevos y no a engordar.

La Sección de Productos Pesqueros, desde sus inicios en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA – UCV) , ha desarrollado una línea de investigación en evaluación de calidad de proteínas en pescado en diversas situaciones, con el objeto de incrementar el valor agregado a los productos de la pesca, evaluar el deterioro de las proteínas debido al efecto de

diversos procesamientos (salado, ahumado, congelado), la actividad enzimática de las proteínas debido al procesamiento, entre otras. Así, también se estudia el efecto deletéreo de los agentes contaminantes sobre la calidad de las proteínas empleadas para consumo humano. De allí el interés de velar por la calidad de los alimentos para el consumo humano y evitar, si así fuera el caso, el consumo de especies que podrían representar un riesgo para la salud del consumidor. Por otro lado, los metales pesados son un grupo de elementos químicos cuya densidad es cinco veces mayor a la del agua y algunos de ellos son tóxicos para los seres vivos. En la Tabla 1, se muestran los principales elementos considerados como metales pesados, entre ellos contamos con el selenio (Se) que no es un metal y otro el Arsénico (As) que se comporta como metal y no metal.

Tabla 1. Principales elementos considerados como metales pesados

Elemento	Número Atómico	Elemento	Número Atómico
Berilio (Be)	4	Arsénico (As)	33
Aluminio (Al)	13	Selenio (Se)	34
Vanadio (V)	23	Molibdeno (Mo)	42
Cromo (Cr)	24	Plata (Ag)	47
Maganeso (Mn)	25	Cadmio (Cd)	48
Hierro (Fe)	26	Estaño (Sn)	50
Cobalto (Co)	27	Bario (Ba)	56
Niquel (Ni)	28	Mercurio (Hg)	80
Cobre (Cu)	29	Talio (Tl)	81
Zinc (Zn)	30	Plomo (Pb)	82

Tomado de: Palma, 2009

Los metales que se encuentran en el ambiente pueden tener su origen natural o Antrópicos, que son los introducidos por las actividades humanas, como agricultura, industrias, minería y desechos domésticos (Tabla 2).

Tabla 2. Principales fuentes de metales pesados provenientes de la Industria

Tomado de: Palma, 2009

Origen Industrial	Sb	As	Cd	Cu	Cr	Hg	Pb	Ni	Zn
Baterías eléctricas			√	√			√	√	
Cementos y Amientos					√				
Fertilizantes			√	√	√	√	√	√	√
Minería	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Motores de vehículos			√	√	√				
Pesticidas		√		√	√	√	√		√
apeleras y similares		√		√	√	√	√		√
Pigmentos y Tintes	√		√	√	√		√	√	√
Plásticos	√		√		√				√
Testiles	√			√	√				√
Cervceras				√					√
Alimentos varios				√	√			√	√

Existen varias investigaciones que muestran el efecto de los metales pesados en especies de peces de importancia comercial (Lakshmi y col. 1991; Ghazaly, 1992; Huang y col. 1997; Demerdash y Elagamy, 1999). El mercurio es considerado el metal más tóxico y el principal contaminante de ambientes acuáticos y supone un riesgo de enfermedades humanas, debido al consumo de pescados contaminados con este metal (Ghazaly, 1992; citado por Demerdash y col. 1999). Los efectos del mercurio en peces de agua dulce se demuestran por la inhibición de la síntesis de proteínas y enzimas con grupos SH, alteración de órganos y disminución de los mecanismos osmorreguladores. Otro elemento contaminante es el cadmio, el cual es considerado un contaminante ambiental resultado de la industrialización moderna, está presente en los residuos de procesos industriales y en las aguas representa alta toxicidad, especialmente para los peces. Los metales pesados, incluyendo el cadmio, tienen efectos negativos en los peces, tales como: desequilibrio osmótico, afección respiratoria, daños en los tejidos y reducción de los recursos energéticos (Demerdash y col., 1999, citado por Acuña, J. 2009); este mismo autor (Demerdash), al estudiar el efecto biológico en el pez *Tilapia nilotica*, como indicador de contaminación de cadmio y mercurio, encontraron que los peces obtenidos del Lago Maryout contenían una acumulación considerada de residuos de Cd y Hg en sus cuerpos comparados con las muestras obtenidas en lago Nozha. La concentración de Cd en las muestras del Lago de Maryout fueron 2,5 a 3 veces más que las del Lago de Nozha. La concentración de Hg en las muestras del lago Maryout fue 1,5 a 1,9 veces más que las muestras de

Nozha. Los resultados obtenidos indicaron que la actividad de todas las enzimas estudiadas fue inhibida, por el contenido de metales en los lagos (Demerdash y Elagamy, 1999).

Arú, (2008) realizó un estudio del contenido de metales pesados en aguas y peces del embalse de Suata, indicando que la concentración de los metales pesados en el agua no sobrepasó los valores máximos permitidos por la norma EPA (1999) para aguas dulces, por lo que no representaron un riesgo para el destino que tienen dichas aguas. El Cu presentó la mayor concentración $1,1 \pm 1,3 \mu\text{g/L}$ seguido por $\text{Pb} > \text{Ni} > \text{Cr} > \text{Hg}$. El Cd presentó menor concentración variando de 0,05 a 0,15 $\mu\text{g/L}$. En los tejidos la concentración de los elementos metálicos disminuyó en el siguiente orden $\text{Cu} > \text{Cr} > \text{Hg} > \text{Ni} = \text{Pb} = \text{Cd}$, encontrándose todos por debajo de 0,85 mg/Kg. La concentración de los metales en las muestras de tejidos de pescados no alcanzó los valores límites permitidos según las normas COVENIN 1776 (1995) y COVENIN 1087 (1998) para atún y sardinas, respectivamente y el Codex Alimentarius (1995) para Cd y Hg. En las muestras de hígado, las concentraciones de los metales fueron superiores a las obtenidas en los tejidos de los mismos peces y la concentración de Cu fue superior al nivel máximo permitido por la norma COVENIN. Por otra parte, se encontraron correlaciones significativas entre la concentración de Cu con la talla y peso de los peces, así como también entre la concentración de los elementos Hg y Ni y la talla de los mismos, posiblemente por procesos de bioacumulación.

En un estudio realizado por Segnini y col., (2005), sobre peces tratados con herbicida, los resultados de tejido muscular, renal e intestinal, mostraron

alteraciones patológicas tales como signos de atrofia muscular con elementos del sistema sarcotubular hinchados (cisternas terminales), degradación de miofibrillas y áreas de hiperconcentración. También se observaron capilares con membrana basal muy gruesa y estrecha luz, además de la presencia de mitocondrias pleomórficas muy densas.

González y col., (2009) realizaron un estudio de la composición química y disponibilidad ambiental de los metales en los sedimentos del embalse Suata desde noviembre 07 de 2008 a febrero 08 de 2009. Así mismo, se evidenció que la concentración de los elementos mayoritarios (Ca, Mg, Al, Fe, Ti, Si) presentaron poca variación dentro del muestreo realizado. Los resultados en el fraccionamiento químico indicaron que la disponibilidad de los metales pesados en los sedimentos presentó el orden Zn>Mn>Co>Ni>Cd>Cu, siendo el Zn el que presentó el mayor riesgo ambiental para el cuerpo de agua, ya que se encontró por el orden del 40% p/p en la primera fracción. Los otros elementos representaron un riesgo moderado. El Zn y el Cd pudieron provenir de fuentes antrópicas.

Segnini y col., (2009), comprobaron efectos de la exposición de *Cyprinodon dearboni* a una dosis subletal en metanol de *Fagara. monophylla* (0,01 µg/ml) sobre la ultraestructura del tejido muscular, con capilares intramusculares con el núcleo hipercromático y el citoplasma endotelial engrosado y vacuolizado, el pericito no exhibió ni vesículas ni vacuolas, con la membrana basal engrosada limitando con abundante colágeno. Alrededor de los capilares se evidenciaron prolongaciones macrofágicas y la región subsarcolémica con mitocondrias gigantes.

El Centro de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias de la UCV ha realizado estudios de la ultraestructura de diferentes tejidos extraídos de branquias, hígado, riñón y musculatura esquelética de peces, describiendo las alteraciones que estos sufren por efecto del Cd (Camero y Finol, 2005); así como en la musculatura esquelética humana (Nadorfy-López y col., 2000). Otros estudios realizados por González y col., 2009, muestran que en el Embalse de Suata (Edo. Aragua), no se detectaron concentraciones elevadas de los metales pesados analizados (Hg, Pb, Cd, Cu, Ni y Cr) en los sedimentos, aguas y músculo e hígado de peces provenientes del embalse. Sin embargo, sus sedimentos presentan riesgos de Ni y Cd, aunque su liberación no es favorecida, lo cual es consistente con los niveles encontrados en aguas y en el músculo e hígado de peces capturados en el embalsa, los cuales son menores que los señalados en el Decreto 883 y en las Normas COVENIN. De acuerdo al contenido de metales pesados y en base a dichas Normas, las aguas del embalsa de Suata son apropiadas para el destino de riego, recreación y sus peces podrán consumirse.

Si bien no hay estudios que demuestren una correspondencia entre los niveles de los elementos, producto del impacto antrópico, en los tejidos de las especies de tilapia, el estudio ultraestructural nos puede dar indicios de ello, ya que las alteraciones producto de la contaminación observable son típicas e inconfundibles de especies que habitan en ambientes contaminados.

Gabriela Palma (2009), estudió el contenido de metales pesados en aguas y peces del lago de Valencia (Edos. Aragua y Carabobo) y encontró que las concentraciones máximas de metales disueltos obtenidos (Cd 0,56 $\mu\text{g L}^{-1}$; Cr

4,91 $\mu\text{g L}^{-1}$; Cu 7,7 $\mu\text{g L}^{-1}$; Hg 0,316 $\mu\text{g L}^{-1}$; Ni 6,20 $\mu\text{g L}^{-1}$ y Pb 4,7 $\mu\text{g L}^{-1}$), no superan los límites máximos permitidos por el Decreto 3.219 de la Gaceta extraordinaria de Venezuela para las aguas con fines de riego y los de la Organización Internacional EPA para agua dulce. Asimismo, se determinó que la concentración de los metales en el lago es estadísticamente homogénea, no encontrándose diferencias entre los sectores y profundidades analizados. Los metales se encontraron correlacionados entre sí por lo que se presume provengan de un origen común, bien sea natural o antrópico.

Por otra parte la misma autora determinó que el contenido metálico en las muestras en el músculo de peces no superan los límites máximos permitidos por las normas COVENIN. En el hígado de peces el contenido metálico fue significativamente mayor que el encontrado en las muestras de músculo, siendo el Cu el elemento en mayor concentración (6,7 mg kg^{-1} en la especie Tilapia y de 28 mg kg^{-1} en la especie Guabinas), lo cual es de esperarse por ser un elemento esencial en los procesos biológicos del pez y los seres vivos. Asimismo, el contenido metálico del Hg en el hígado, sobrepasa los valores máximos permitidos alcanzando valores de 0,3 mg kg^{-1} tanto en la especie Tilapia como en Guabina. Adicionalmente, el elemento con mayor concentración en el músculo de peces fue el Pb, donde los valores determinados son cercanos a los valores máximos permitidos por las normas COVENIN, por lo que el consumo de estos peces puede representar un riesgo para la salud en un futuro. Del mismo modo, no se observaron indicios de

bioacumulación ya que las concentraciones encontradas en los tejidos de peces no mostraron correlación con la talla o el peso del pez.

En 2010, Kharla Ziegler determinó que el contenido de los metales disueltos en las aguas del Lago de Valencia, no supera los valores máximos especificados en la norma EPA para aguas dulces, ni en los decretos nacionales 3.219 y 883, por lo que deduce que estas aguas son aptas para el uso de riego y recreación contemplados en estas normativas. También determinó que la concentración de los metales disueltos en las aguas del lago, muestra homogeneidad espacial, entre estaciones de muestreo y dentro de la columna de agua, a consecuencia del continuo mezclado de las aguas. El promedio anual de las concentraciones de los metales disueltos en las aguas del Lago de Valencia fueron las siguientes: Cd $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$, Cr $0,86 \mu\text{g L}^{-1}$, Cu $0,57 \mu\text{g L}^{-1}$, Hg $0,08 \mu\text{g L}^{-1}$, Ni $1,96 \mu\text{g L}^{-1}$ y Pb $1,18 \mu\text{g L}^{-1}$. Las correlaciones significativas obtenidas entre el Pb con el Cd, Cu, Ni y Hg, indicarían su introducción conjunta al cuerpo de agua mediante una fuente y vehículo común. Por otra parte, la concentración de los metales en el hígado de peces fue superior que en el músculo, donde las concentraciones de Cd y Cu no superaron los valores máximos permitidos contenidos en las normas COVENIN 1087 y 1766 y en el Codex Alimentarius. Sin embargo, las concentraciones de Hg obtenidas en músculo ($0,25-0,39 \text{ mg Kg}^{-1}$), sobrepasaron el valor máximo permitido por la norma COVENIN 1087 ($0,10 \text{ mg Kg}^{-1}$), y las de Pb ($1,1-1,7 \text{ mg Kg}^{-1}$) sobrepasaron el valor máximo establecido en el Codex Alimentarius ($0,3 \text{ mg Kg}^{-1}$), así como los indicios de bioacumulación de Hg y Cr, determinados en algunos ejemplares de peces, de

acuerdo al factor de bioacumulación (FBC), muestran que el consumo de los peces del Lago de Valencia representa un riesgo para la salud humana.

También en 2010, Anamelia González, al estudiar trazas metálicas de Cd, Cr, Cu, Ni Hg y Pb disueltas en las aguas y tejido de peces capturados en el Lago de Valencia, durante el semestre noviembre 2009-mayo 2010, mostró resultados comparables a los de Karla Ziegler (2010), en el sentido de que los resultados mostraron que el contenido de los metales disueltos en las aguas, no supera los valores máximos especificados en la norma EPA (2006) para aguas dulces, y en los decretos nacionales 3.219 y 883, por lo que son aptas para el uso de riego y recreación contemplados en estas normativas, que las clasifican como aguas Tipo 2, Sub-tipo 2B. Por otra parte, la concentración de los metales mostró variaciones estacionales, observándose una disminución de la concentración de todos los elementos desde el mes de junio 2009, atribuyéndose al incremento del pH que ocurre en la época de lluvias.

III. OBJETIVOS

III. a. Objetivo General

1. Evaluar los daños en la ultraestructura de peces de interés comercial provenientes de Lago de Valencia (Estados Aragua y Carabobo) a causa de impactos antrópicos.

III. b. Objetivos Específicos

1. Evaluar las posibles alteraciones en la ultraestructura en los sistemas contráctil y sarcotubular de las fibras musculares esqueléticas en Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) por efecto de la contaminación con metales pesados en el Lago de Valencia.
2. Determinar cambios en mitocondrias y otras estructuras por efecto de metales pesados en la Tilapia (*Oreochromis mossambicus*).
3. Determinar posibles procesos de necrosis segmentaria, provocada por la contaminación.
4. Estudiar posibles anomalías en la microestructura muscular esquelética de tilapias capturadas en el Lago de Valencia.
5. Estudiar posibles alteraciones a nivel neuromuscular.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Recolección de Peces

Esta investigación tomó para referenciar los resultados obtenidos del Lago de Valencia, un ejemplar de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) cultivada en estanques, con condiciones libres de contaminantes, a la cual se sometió al mismo procedimiento descrito por la Microscopía Electrónica de Transmisión, que las del Lago de Valencia,

Como ejemplar representativo del Lago de Valencia se capturaron Tilapias (*Oreochromis mossambicus*) a tempranas horas de la mañana (entre 5:30 a 7:00 am) través de pescadores artesanales mediante redes. Se realizaron cinco muestreos en el lago de Valencia entre los meses de mayo a noviembre de 2010, para un total de doce ejemplares. Estos ejemplares nos fueron entregados para este estudio, enseguida de capturados y se procedió en el mismo lugar a realizar las disecciones de la tilapia para tomar muestras de la musculatura dorsal y caudal, así como de su hígado (Figs. 2, 3, 4).



Figura 2. Muestra Proceso de disección de ejemplar de tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Izquierda el Ejemplar de tilapia entera. Derecha disección de un ejemplar de tilapia.



Figura 3. Cortes del músculo de tilapia (*Oreochromis mossamicus*). Izquierda corte del músculo. Derecha corte dorsal o caudal.



Figura 4. Ejemplares de órganos internos de las muestras de tilapia (*Oreochromis mossamicus*) capturado en el Lago de Valencia.-

IV.2. Tratamiento de muestras recolectadas

Una vez colectados, los peces se lavaron con abundante agua destilada para remover las partículas externas y exceso de mucus. Posteriormente se tomaron biopsias de la musculatura del ejemplar, así como del hígado, para seguir con lo procedente para la observación en microscopía electrónica de transmisión.

Los envases en donde se colocaron las muestras fueron lavados en HNO₃ al 15% durante un día y enjuagados con suficiente agua destilada antes de ser empleados.

V.3. Procesamiento de las muestras para la microscopía electrónica

IV.3.a. Fijación y lavados

_ Las muestras fueron tomadas en campo y fijadas inmediatamente, según la metodología descrita; posteriormente llevadas al laboratorio para continuar con su procesamiento.

_ En el laboratorio se realizó doble fijación con glutaraldehído al 3% y Tetróxido de Osmio (OsO₄) al 1% en buffer fosfato de Millonig (pH 7,8 y 320 mOsm), por 30 min a 4° C.

_ Lavados con buffer fosfato; 3 cambios de 1 min c/u.

_ Fijación con OsO₄ al 1% en buffer fosfato de Millonig, por 1 h.

_ Lavado con agua destilada. Tres cambios de 5 min. c/u, total 15 min.

_ Precoloración con 3% de acetato de uranio en agua, por 10 min.

IV.3.b. Deshidratación

Las muestras fueron deshidratadas con concentraciones crecientes de etanol:

_ Etanol al 50% en agua, por 5 min.

_ Etanol al 70% en agua, por 5 min.

_ Etanol al 95% en agua, por 5 min.

_ Etanol al 100%, por 5 min., serán 2 cambios.

IV.3.c. Infiltración

Las muestras seleccionadas se trataron con Óxido de propileno

y Óxido de propileno-epón (1:1).

_ Oxido de propileno, por 15 min., serán 2 cambios.

_ Oxido de propileno-epón (1:1), por 30 min.

_ Epón. Usando placa aforada y se realizaron 4 cambios de 30 min. c/u.

IV.3.d. Inclusión

La inclusión se realizó en resina Embed 812 (en estufa a 60°C, durante 48h.).

IV.3.e. Cortes

Cortes de 60-90nm en el ultra micrótomo Porter-Blum MT2-B.

IV.3.f. Contrastación

Con acetato de uranilo y citrato de plomo.

IV.3.g. Observación

En el microscopio electrónico de Transmisión JEOL JEM-1220, con voltaje de aceleración de 100 kV, se observaron las muestras y se le hicieron las micrografías pertinentes para su estudio (Fig. 5).



Figura 5. Microscopio Electrónico de Transmisión JEOL JEM-1220 con voltaje de aceleración de 100 kV. Universidad Simón Bolívar. Grupo de Polímeros.

V. RESULTADOS

V.1. Aspectos externos y observaciones de los ejemplares capturados en el Lago de Valencia: Tilapia (*Oreochromis mossambicus*).

Se capturaron 12 ejemplares con tamaños entre 24 y 31 cm de longitud.

En la observación a simple vista de los ejemplares capturados, estos no mostraron daños o malformaciones en su aspecto externo (Figs. 2, 3), sin embargo, al observar los órganos internos pudimos detectar daños tisulares especialmente en hígado e intestinos. (Fig. 4).

Las muestras de la musculatura dorsal y caudal de la tilapia (Fig. 3) fueron cortadas en tamaños de 1 a 2 mm, para colocarlas en solución de glutaraldehído al 3%, para su fijación y traslado al laboratorio en frascos refrigerados (4°C), para procesarlas, según el protocolo descrito para microscopia electrónica de transmisión, Finol, H. J., 1986; del mismo modo, se tomaron muestras del hígado de estos ejemplares, pero al analizarlas en microscopio electrónico, no arrojó campos de observación donde se observaran estructuras celulares claras, que permitan hacer las micrografías para analizarlas.

En todos los casos para el análisis científico, se tomaron micrografías realizadas desde el microscopio electrónico de transmisión, modelo JEOL JEM-1220 con voltaje de aceleración de 100 kV (Figs. 5, 6).



Figura 6. Microscopio Electrónico de Transmisión JEOL JEM-1220. Universidad Simón Bolívar. Grupo de Polímeros.

V. 2. Microscopía Electrónica de Transmisión

En la muestra tomada del ejemplar control (Tilapia criada en hábitat controlado) (Fig. 7), analizada bajo MET, se observa que las miofibrillas de esta fibra presentan línea **Z** de trazado recto, igualmente puede verse que el sistema sarcotubular está representado por tríadas (**Tr**) a nivel de la línea **Z** y un retículo sarcoplasmático bien organizado, de las que se observan túbulos longitudinales en la Fig 7. Además de las bandas **A** e **I**, la línea **M** se localiza en el centro del sarcómero dividiendo en dos porciones la banda **I**.

La respuesta a la agresión por parte de la fibra muscular esquelética consistió en Atrofia y Necrosis segmentaria. En el primer caso, se aprecia el incremento de los espacios intermiofibrilares y subsarcoplasmáticos, con supercontracción de las miofibrillas, por lo que no es posible visualizar la banda **M** y la banda **H**

(Figs. 8 y 9). Sin embargo, las tríadas aún se pueden localizar a nivel de la línea **Z**, así como las trébulas del retículo sarcoplasmático a nivel de la banda **A**. Tanto en los espacios intermiofibrilares como sarcoplasmáticos se observan numerosas mitocondrias hipertrofiadas. En algunas de estas mitocondrias se localizan inclusiones para cristalinas. Adicionalmente, se presentan lisosomas y vacuolas autofágicas (cabeza de flechas).



Figura 7.
Micrografía electrónica de sección longitudinal de una fibra muscular esquelética de ejemplares control de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*).
Bandas **A**, **H**, e **I**; líneas **M** y **Z**; triadas, túbulos del retículo sarcoplasmático (flechas) y partículas de glucógeno.
Aumento 16.000 X.

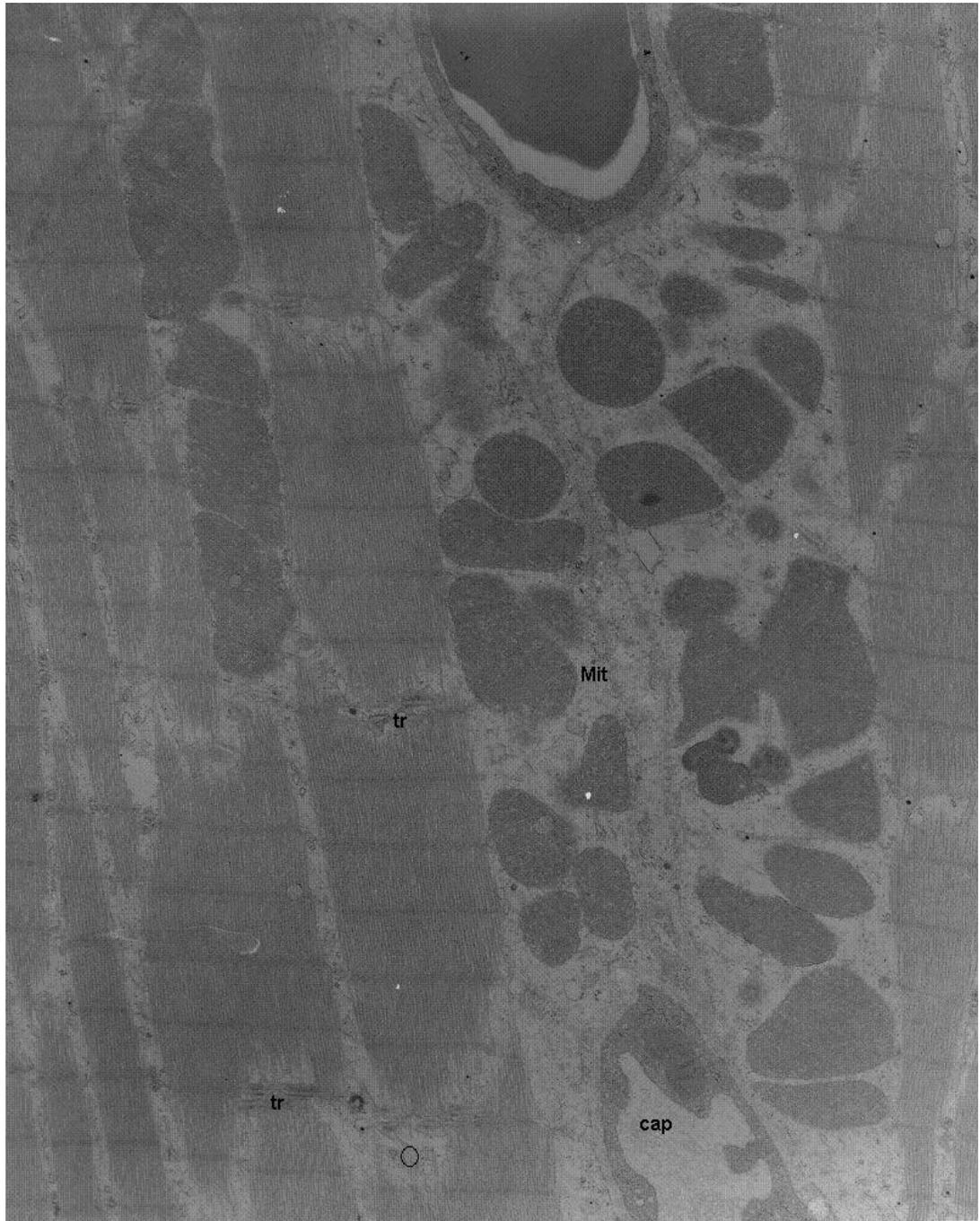


Figura 8.
Micrografía electrónica de sección longitudinal de musculatura esquelética de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. Tríada (**tr**), mitocondrias (**Mit**), Túbulo del sistema sarcotubular (**O**), Capilar (cap) con prolongaciones del citoplasma endotelial hacia la luz.
Aumento 12.000 X.

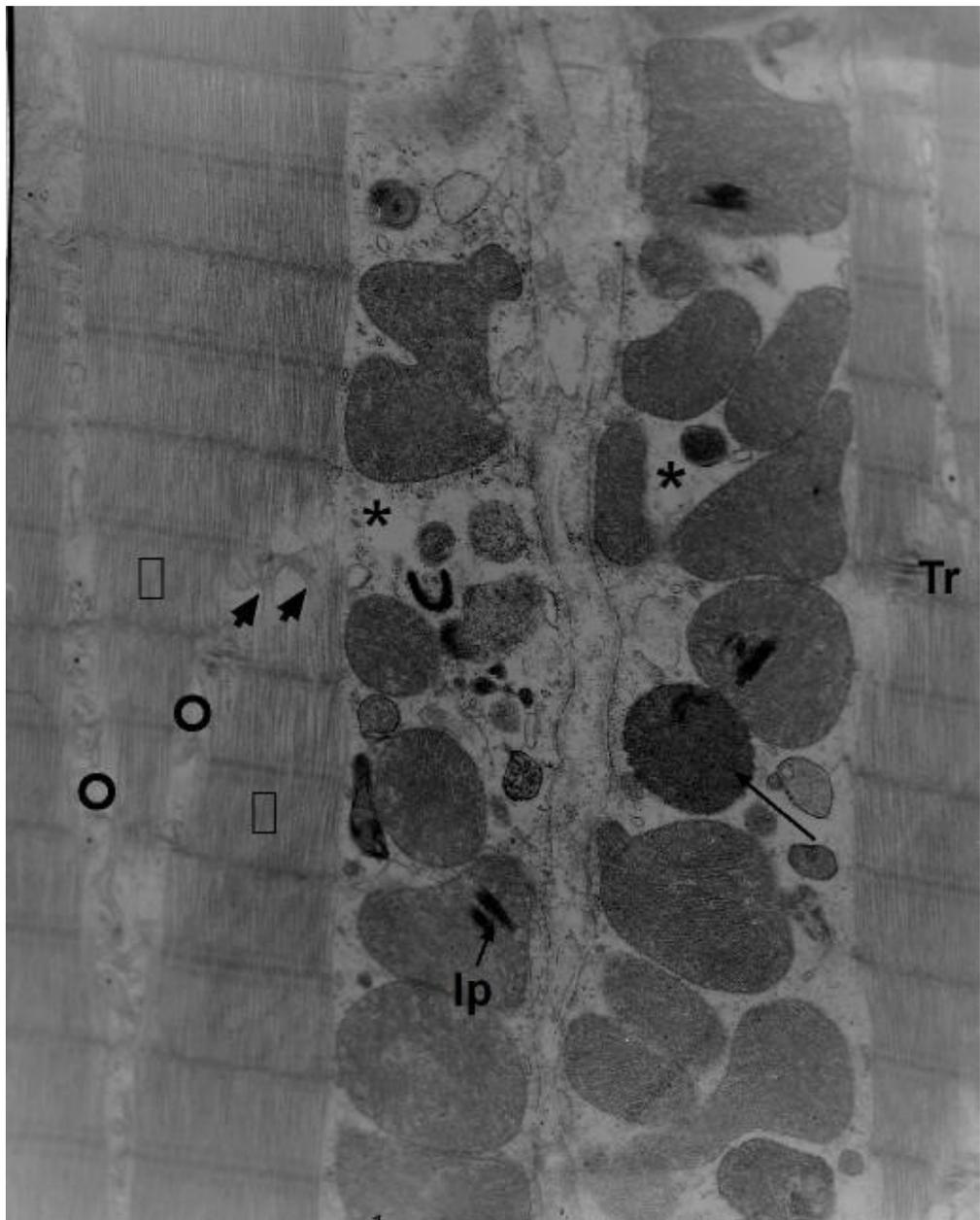


Figura 9.
Micrografía electrónica de sección longitudinal de musculatura esquelética de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. Espacio subsarcolémico ampliado (*), Miofibrilla supercontraída (□), espacios intermiofibrilares ampliados (○), túbulos del retículo sarcoplasmático (▶) y triadas (Tr), inclusiones paracristalinas (Ip). Aumento 20.000 X.

En caso de necrosis segmentaria, la primera evidencia de la misma consiste en la pérdida del sarcolema, así como, la presencia de mitocondrias y componentes sarcotubular edematizados (Fig. 10). En la figura 11, tampoco se aprecia sarcolema tanto en la sección superior de la fibra como en la inferior.

Algunas de las abundantes mitocondrias son del tipo considerado bizarro. También en las secciones de necrosis segmentaria es posible observar vacuolas autofágicas, algunas del tipo mielínico (Fig. 11). En el área de necrosis segmentaria se aprecia la desorganización y pérdida de los elementos contráctiles, como se observa en las Figs. 12, 13 y 14. Ello ocurre concomitantemente con la fragmentación de los componentes del sistema sarcotubular, observándose de éste último, solo vesículas y vacuolas. En tales áreas, no se localizan gotas de lípidos o partículas de glucógeno.

En los espacios subsarcolémicos, además de la presencia de vesículas y vacuolas, también se aprecian restos mitocondriales (Figs. 15, 16, 17), así como, núcleos degenerados (Fig. 17).

En etapas posteriores de la necrosis, solo es posible localizar masas contráctiles amorfas, infiltradas por microorganismos.

En relación a la microvasculatura (Figs. 18 y 19) en secciones musculares se observaron capilares con un endotelio capilar estrecho como exhibe el músculo normal (Fig. 20), así como capilares con paredes endoteliales con áreas de diferentes densidad electrónica (Fig. 11). El engrosamiento del endotelio llevó a la oclusión casi completa de la luz (Fig. 21). La formación de prolongaciones del citoplasma endotelial hacia la luz, también se presentó (Fig. 8).

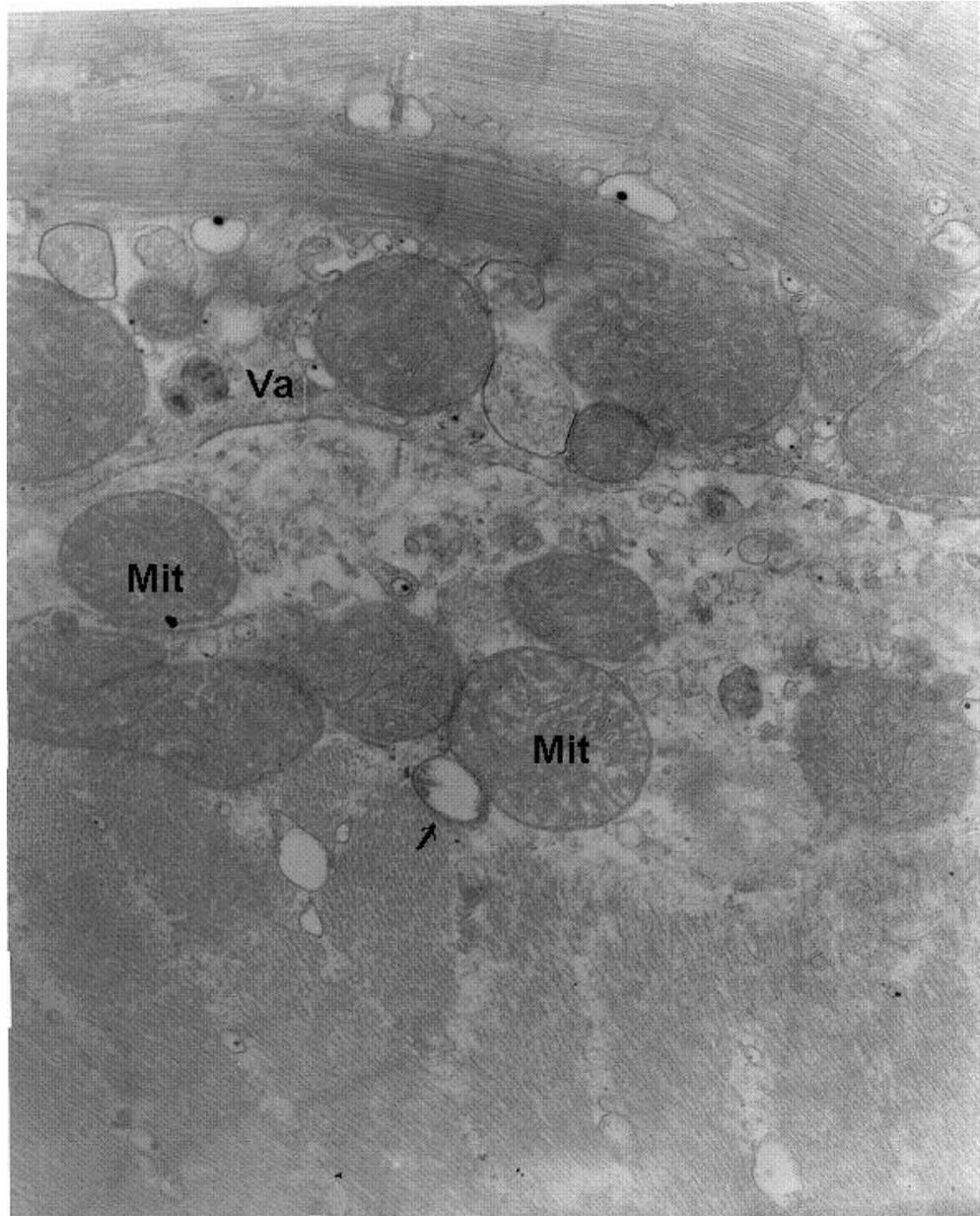


Figura 10.
Micrografía electrónica de sección longitudinal de musculatura esquelética de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. **Necrosis segmentaria.** Con pérdida del sarcolema de la fibra en porción inferior (*). En el espacio subsarcolémico ampliado se presentan megamitocondrias o mitocondrias hipertróficas (**Mit**) y mitocondria edematizada (↗). En la parte superior se localiza una vacuola autofágica (**Va**).

Aumento 24.000 X.

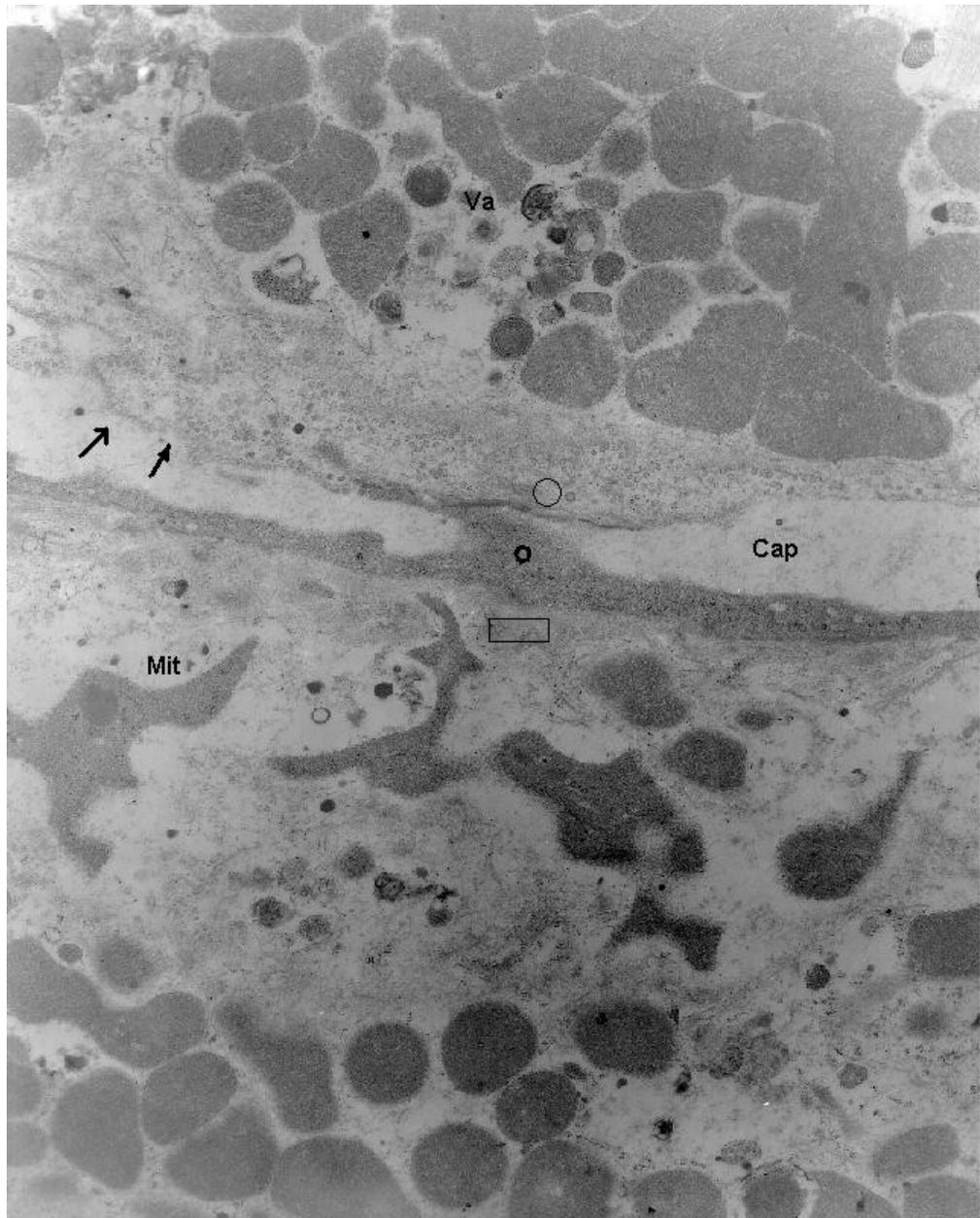


Figura 11.

Micrografía electrónica de sección de musculatura esquelética de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. **Necrosis segmentaria.** Se observan mitocondrias bizarras (**Mit**), vacuolas autofágicas (**Va**), área desprovista de sarcolema (). Capilar con área electrón densa (**O**) y electrón transparente (**O**) membrana plasmática interrumpida endotelial (**→**). Aumento 12.000 X.

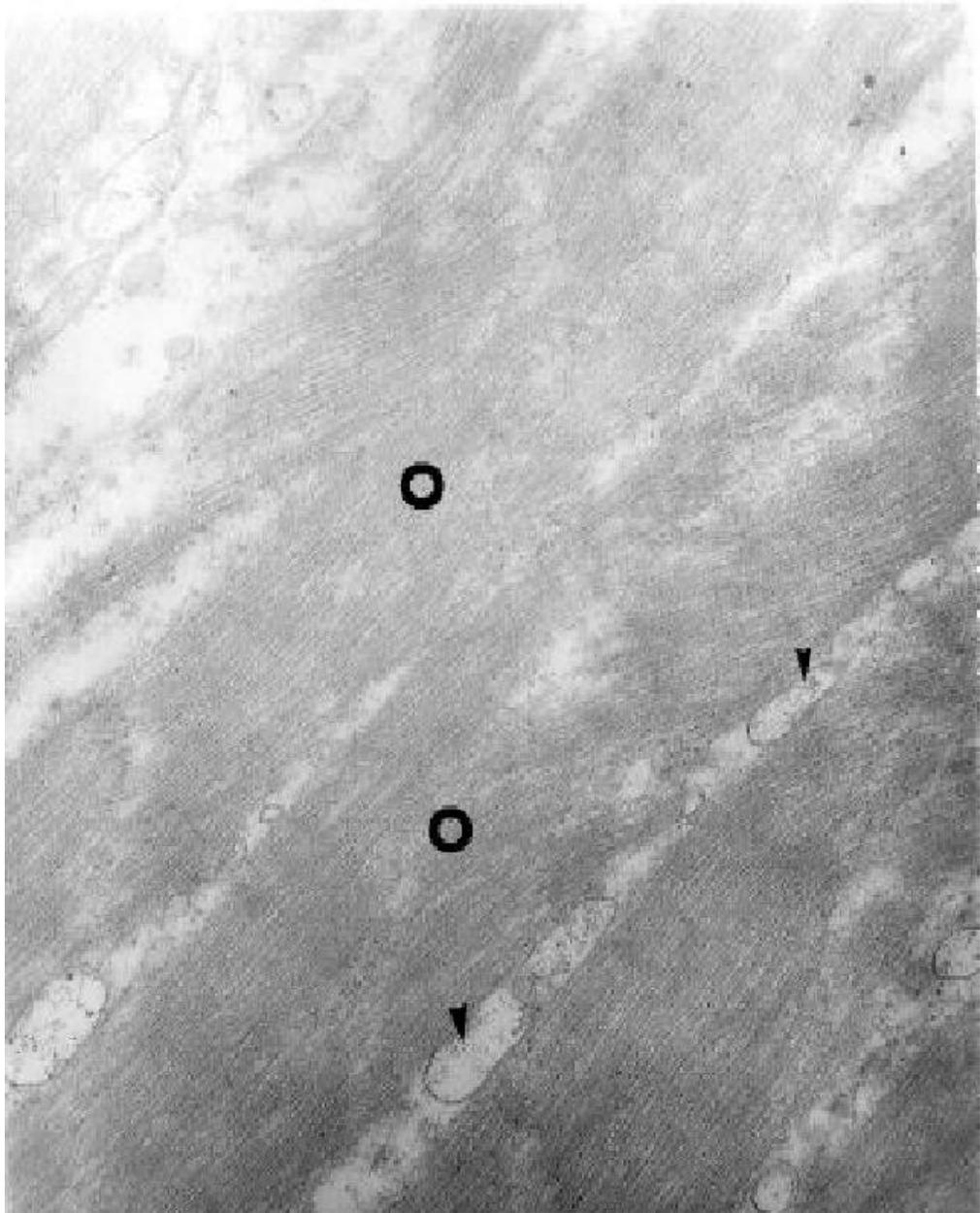


Figura 12.
Micrografía electrónica de sección longitudinal de músculo caudal esquelético,
de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia.
En áreas de necrosis segmentaria se observan áreas contráctil desprovistas
de estriación sarcolémico (O)
y cisternas edematizadas del sistema sarcotubular (▼).
Aumento 40.000 X.

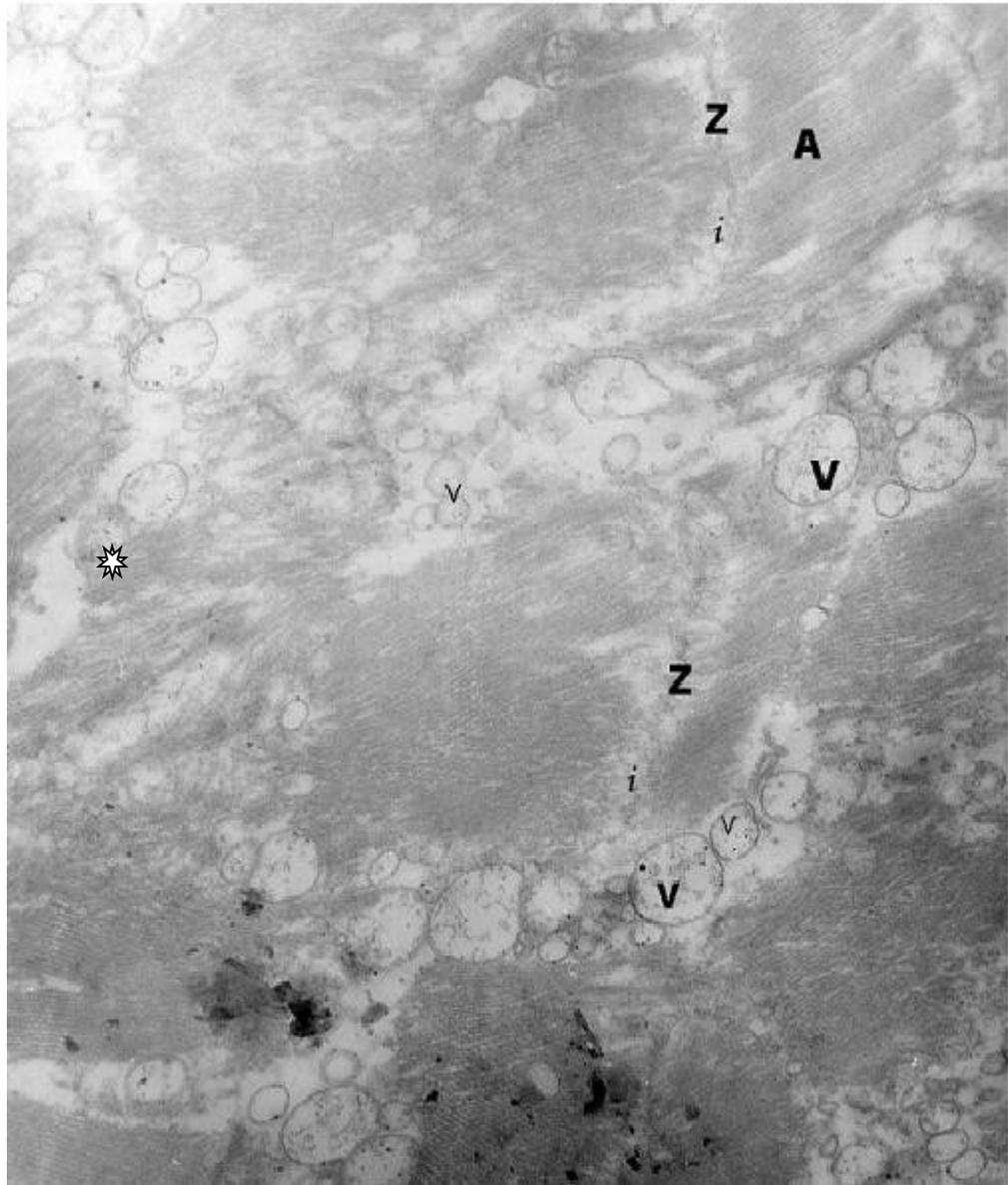


Figura 13.
Micrografía electrónica de sección de músculo dorsal de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. En las estriaciones solo se visualiza un área de línea **Z**, distinguiéndose paquetes de miofilamentos, algunos francamente desorganizados (*). Del sistema sarcotubular, únicamente vesículas (**v**) y vacuolas (**V**). Nótese la ausencia de partículas de glucógeno en los espacios intermiofibrilares. En los sarcómeros solo se observan bandas **A** e **i**.
Aumento 24.000 X.

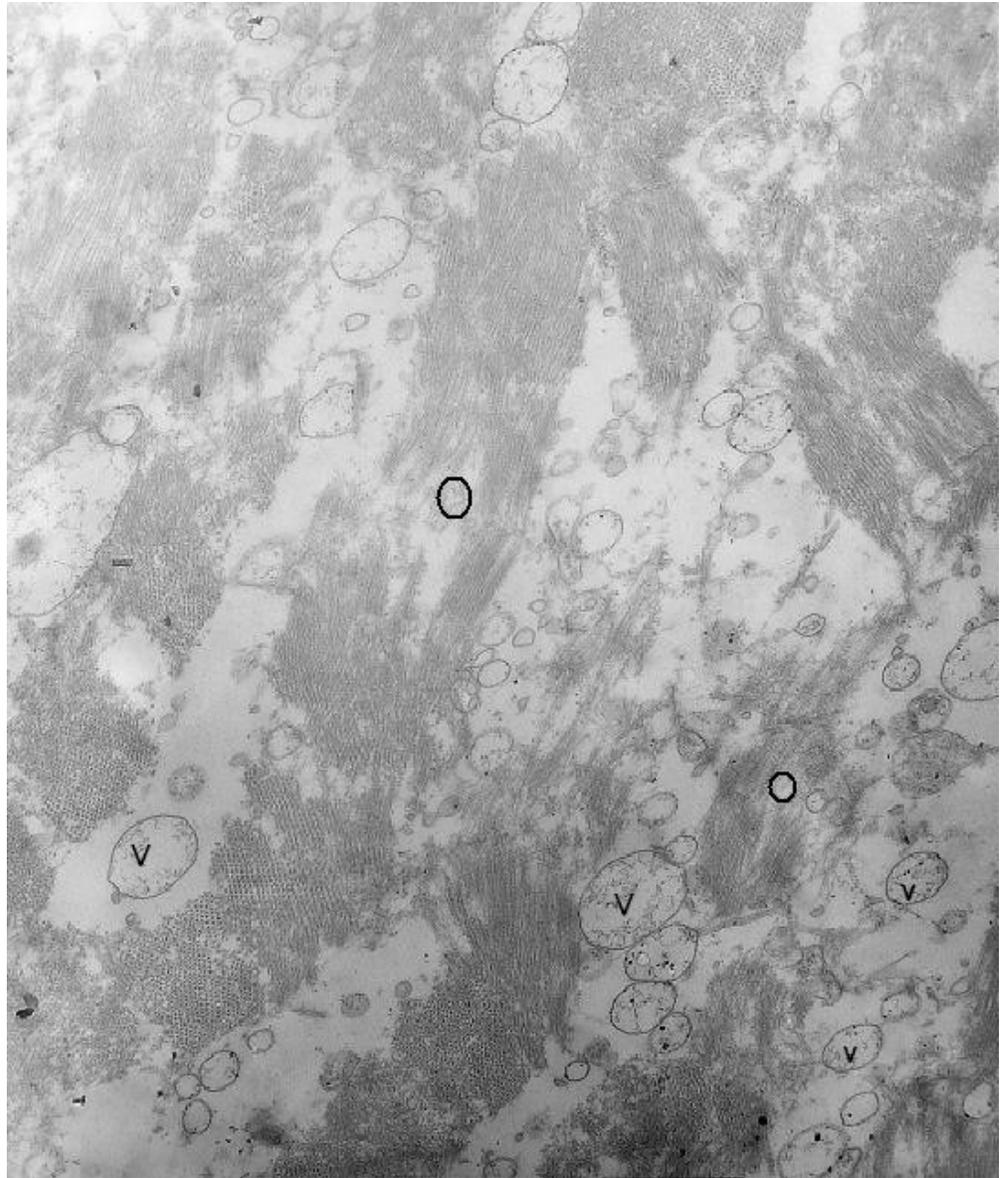


Figura 14.
Micrografía electrónica de sección de músculo de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. Muestra necrosis segmentaria con espacios intermiofibrilares aún más amplios. Nótese los restos de las miofibrillas (O) y del sistema sarcotubular (V). Aumento 20.000 X.

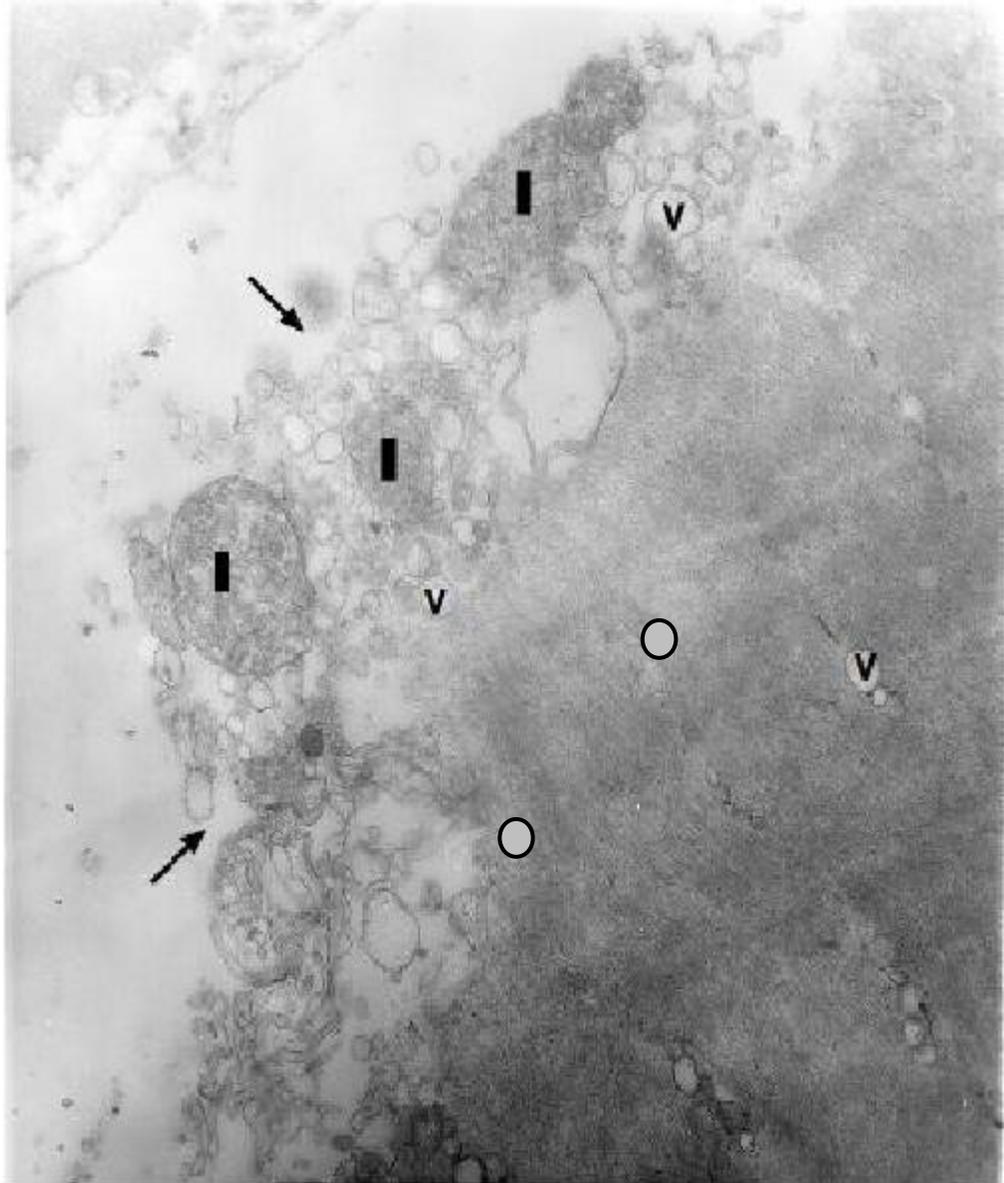


Figura 15.
Micrografía electrónica de sección de músculo
de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia.
Masas contráctiles (O) y restos vesiculares (v) del sistema sarcotubular ;
Se observan restos de mitocondrias (■) en la región subsarcolemica.
Nótese la ausencia de sarcolema (↗).
Aumento 20.000 X.

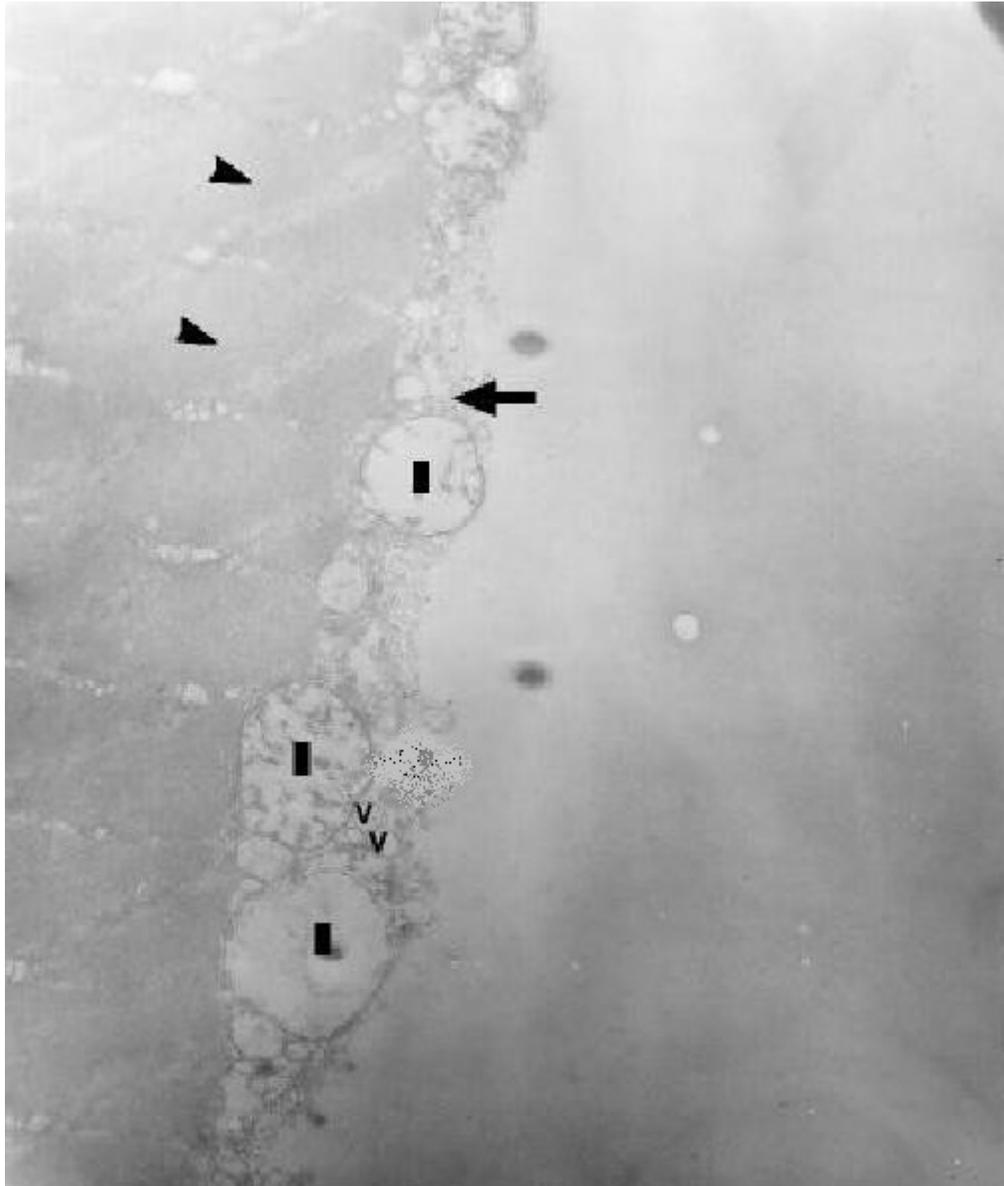


Figura 16.
Micrografía electrónica de sección de músculo
de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia.
En esta sección de necrosis segmentaria, se evidencia la pérdida del
sarcolema (➡), restos mitocondriales (■), vesiculares (v)
del sistema sarcotubular y masas contráctiles (▶).
Aumento 12.000 X.

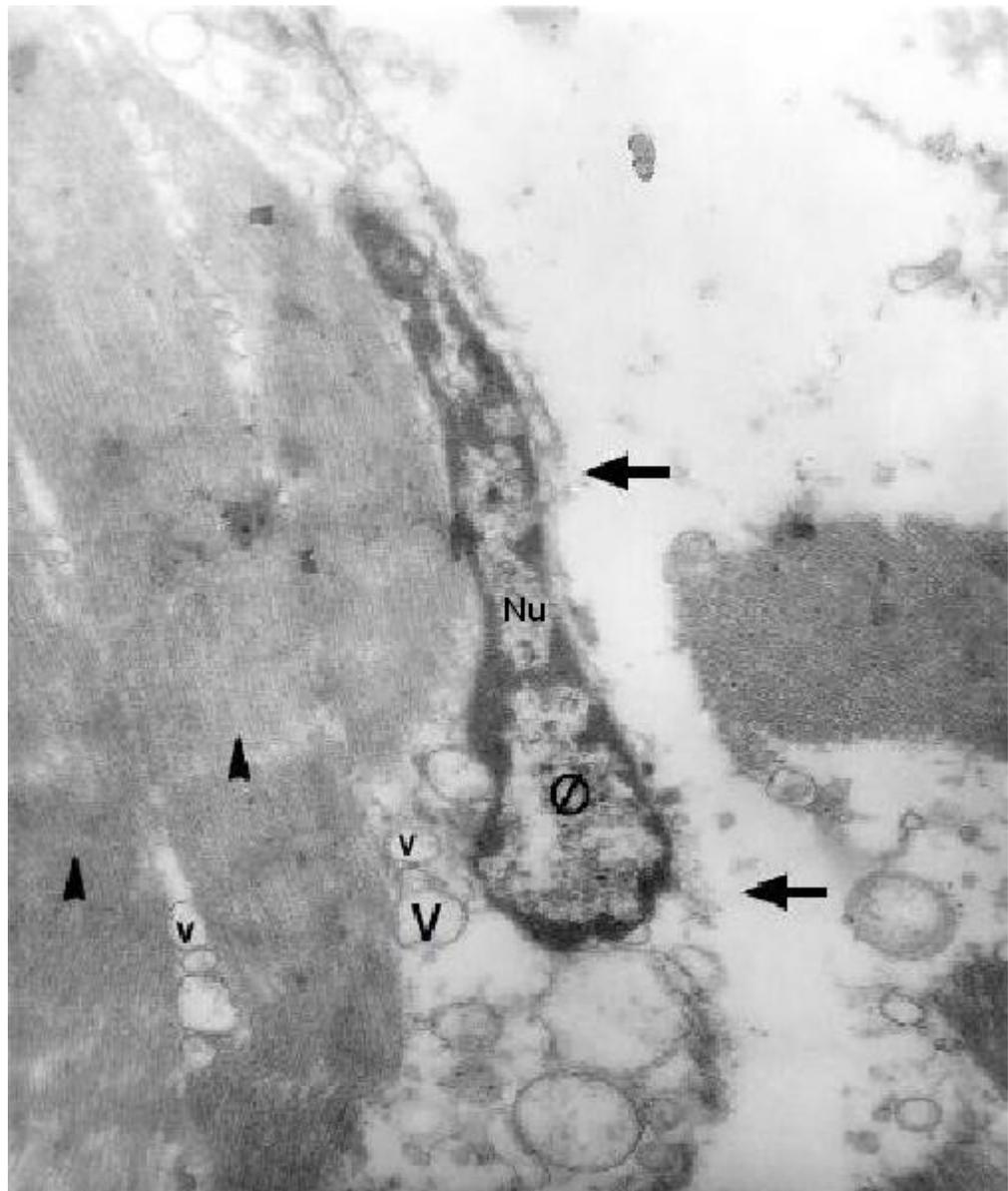


Figura 17.
Micrografía electrónica de sección de músculo de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. En esta sección de necrosis segmentaria nótese restos vesiculares (**v**) del sistema sarcotubular; un núcleo muy alterado (**Nu**), restos del sistema contráctil (**▶**) y ausencia de sarcolema (**➡**).
Aumento 30.000 X

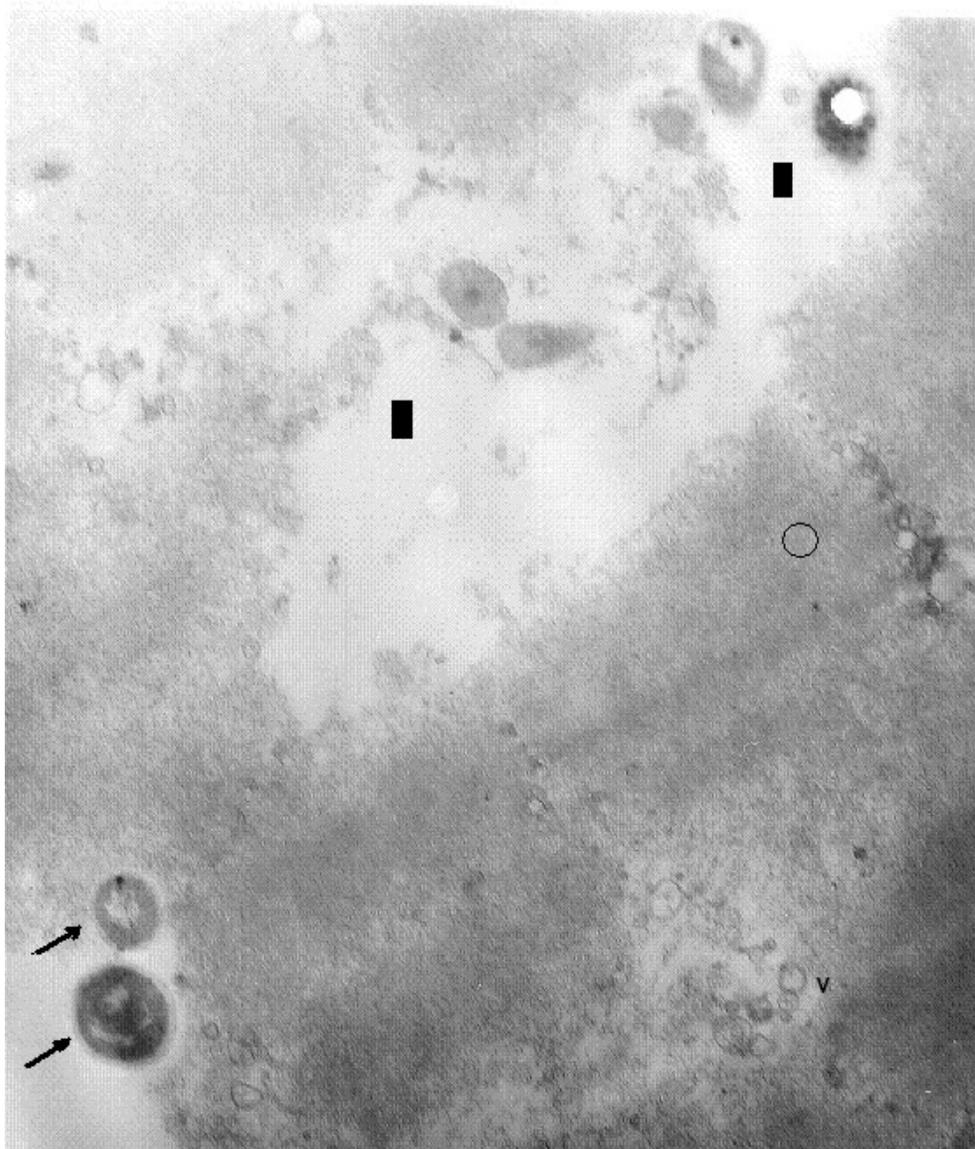


Figura 18.
Micrografía electrónica de sección de músculo de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. Sección con necrosis segmentaria. Nótese la presencia de restos contráctiles (○), otros vesiculares (v), espacios sarcoplasmáticos (■) y la presencia de algunos microorganismos (➔).
Aumento 20.000 X.

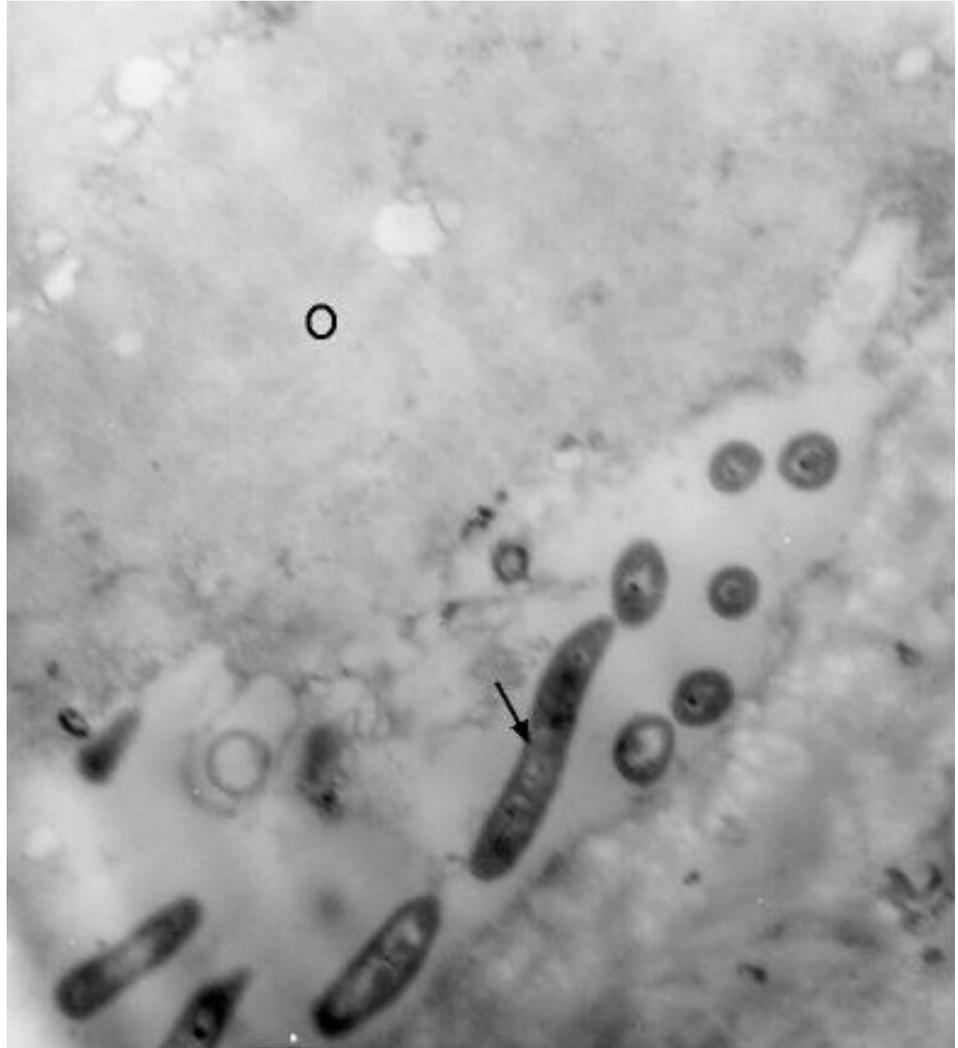


Figura 19.
Micrografía electrónica de sección de músculo
de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia.
Sección de Necrosis segmentaria.
Véase restos de elementos contráctiles (O)
y presencia de microorganismos (➔).
Aumento 20.000 X.

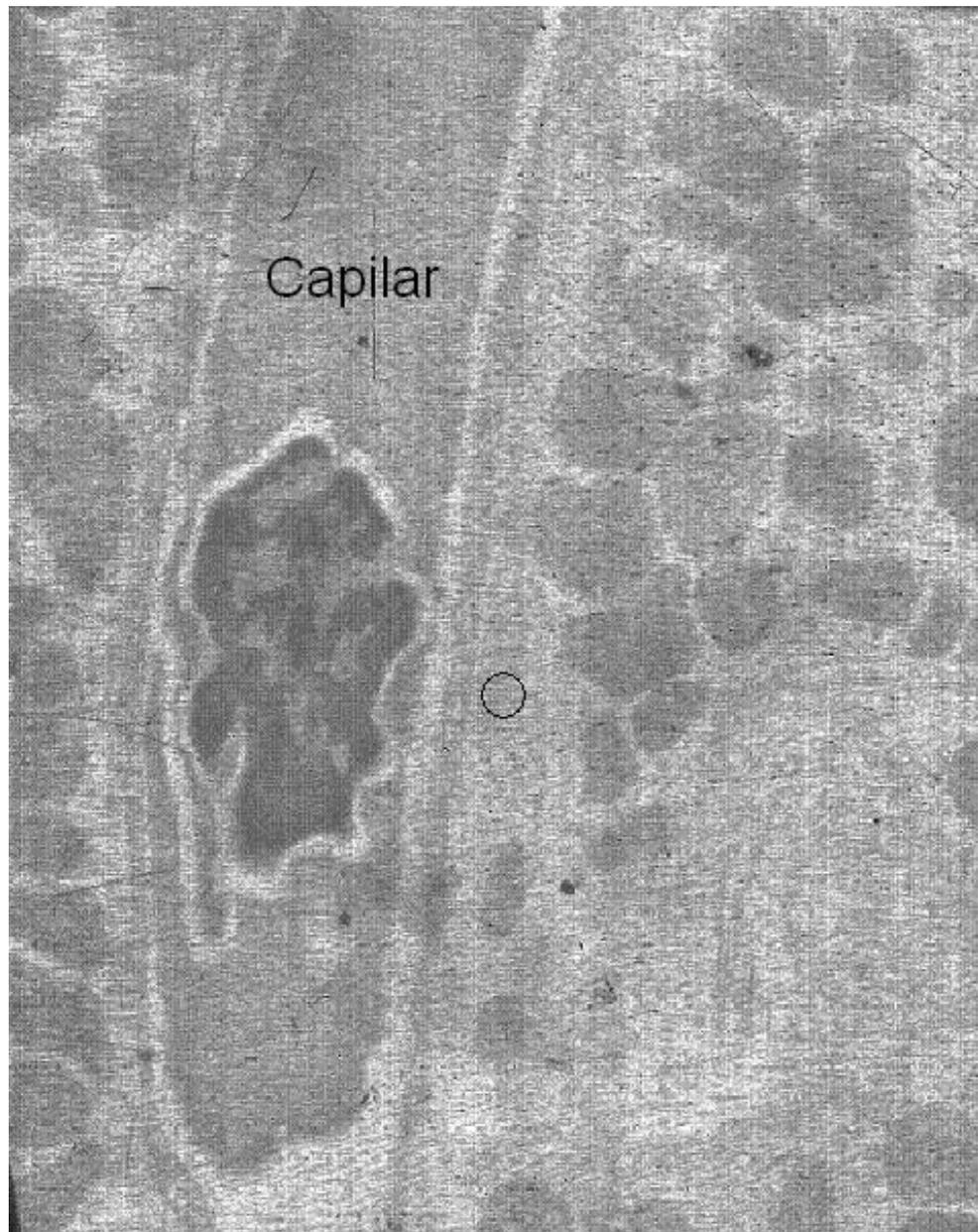


Figura 20.
Micrografía electrónica de sección de músculo de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. Se destaca un capilar con un eritrocito nucleado, una pared endotelial estrecha como correspondería a una muestra control, aún cuando no se distinguen vesículas pinocíticas o caveolas. Región subsarcolémica (○) se nota muy ampliada con abundantes mitocondrias.
Aumento 20.000 X.



Figura 21.
Micrografía electrónica de sección de músculo de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. Se muestra capilar (**C**) con citoplasma endotelial muy engrosado con nucleolo (**N**); cisternas. En el mismo abundan las vesículas (**○**) y las caveolas (**Ca**). Retículo endoplasmático rugoso (**Rec**) y mitocondrias (**Mit**).
Nótese que la luz está casi ocluida (**●**), en la región subsarcolémica de la fibra megamitocondrias (**e**).
Aumento 20.000 X.

Las alteraciones en los nervios motores consistieron en un proceso de desmielinización aparentemente no acompañado por un proceso de axonólisis (Figs. 22, 23).



Figura 22.
Micrografía electrónica de sección de músculo de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. En el nervio motor se aprecia un proceso de desmielinización (➤), aún cuando el axón luce aparentemente normal (**Ax**). Aumento 20.000 X.

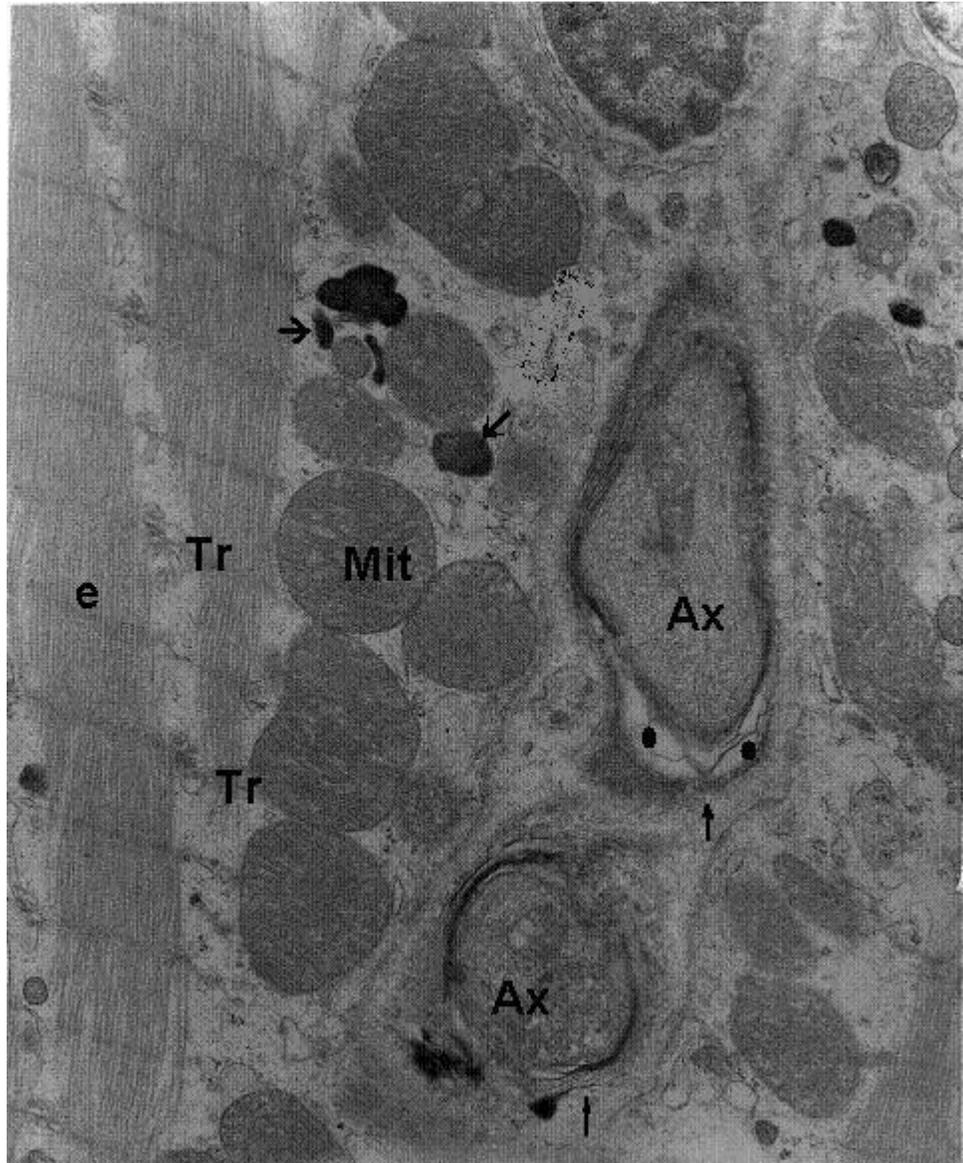


Figura 23.

Micrografía electrónica de sección de músculo de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*), capturada en el Lago de Valencia. En los nervios motores se observan procesos de desmilitinización (→), pero con un axón que luce normal. En la región subsarcolémica ampliada se aprecian varias megamitocondrias o mitocondrias hipertróficas (**Mit**) y estructuras lisosomales (➡). Las miofibrillas lucen contraídas (**e**) y en los espacios intermiofibrilares se observan triadas (**Tr**). Aumento 20.000 X.

VI. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación en cuanto al análisis con técnicas de microscopía electrónica de transmisión MET, de las muestras de musculatura esquelética de ejemplares capturados en el Lago de Valencia entre los meses de mayo y noviembre del 2010, mostraron diversas alteraciones en la ultraestructura muscular esquelética de los ejemplares estudiados, en comparación a la muestra del ejemplar control.

La fibra muscular es una célula rodeada por una cubierta compleja. En su interior (sarcoplasma) se localizan numerosos núcleos, el sistema sarcotubular, el sistema contráctil, organelos y otras estructuras. Las fibras musculares pueden responder a la agresión por efecto de la contaminación presente en su hábitat con diferentes patologías, descritas en la literatura como atrofia, hipertrofia, necrosis, regeneración y autofagia (Cullen y Mastaglia, 1982; DeGirolami y Smith, 1982); En las muestras analizadas se pudieron apreciar diversas formas de estas patologías como atrofia, necrosis y autofagia. La atrofia constituye una de las respuestas fundamentales de la fibra muscular a la carencia de inervación y en consecuencia, la pérdida del efecto trófico del nervio y la desorganización y destrucción de la fibra muscular (Finol, 1986). En las muestras analizadas se evidencian daños en la capa mielínica de los nervios motores concomitantemente con cambios en los sistemas contráctil y sarcotubular como los descritos por Finol (1986, 2006) para la atrofia neurogénica. De la

misma manera que lo descrito en el caso de neurotomía experimental, en el presente trabajo los cambios del sistema contráctil consistieron en la desorganización de las miofibrillas y pérdida de los miofilamentos, en tanto que en el sistema sarcotubular los cambios consistieron en la fragmentación de túbulos T y componentes del retículo sarcoplasmático. Este se acompañó por autofagia de sistemas membranosos como las mitocondrias, así como, la desaparición de las partículas de glucógeno. Sin embargo, conjuntamente con autofagia de restos mitocondriales, se observó la presencia de mitocondrias hipertrofiadas y algunas con inclusiones para cristalininas. Estas últimas se han encontrado asociadas a mitocondrias en condiciones de hipoxia, como ocurre en tumores y necrosis metastásicos (Correa y col., 1998; Finol y col., 1997).

La presencia de cuadros de necrosis segmentaria en el presente material, sugiere que adicionalmente a un problema con la inervación motora que pudiera explicar la atrofia observada, deben existir otras razones para que se genere la misma, particularmente por cuanto también se acompaña con anormalidades capilares. Sin embargo, esas anormalidades no son apreciadas en el músculo desnervado por lo que se corresponden todos esos cambios con procesos como los que tienen lugar en enfermedades autoinmunes (Finol, 1992, Villar, 2011) y procesos autoinmune (Márquez y col., 2001). No obstante, en las miosítis asociadas a procesos autoinmunes, la necrosis segmentaria se

acompaña con necrosis de los capilares y la presencia de un infiltrado celular mononuclear, hallazgos no obtenidos en esta investigación.

Aún cuando las últimas investigaciones efectuadas en el Lago de Valencia, determinaron que el contenido metálico en las muestras de músculo de los peces no supera los límites máximos permitidos por la normas COVENIN (Palma, 2009; González, 2010, Ziegler, 2010), los presentes resultados podrían sugerir efectos subletales de algunos de esos metales como los demostrados, por ejemplo, en el caso del mercurio (Nadorfy de López, y col., 2000). Sin embargo a esos resultados podrían contribuir otros factores como bajas concentraciones de oxígeno en el agua (González, 2010)

La presencia de metales pesados (Tabla 1 y 2) en las aguas del Lago de Valencia como en músculos de las Tilapias investigadas, sugieren que estos pudieron haber influido en los daños encontrados en la ultraestructura muscular esquelética de la tilapia (*Oreochromis mossambicus*) del Lago de Valencia, como la atrofia y necrosis hallados en el presente estudio.

VII. CONCLUSIONES

1. Los tejidos de los peces analizados (de tilapia *Oreochromis mossambicus*) presentaron daños a nivel ultraestructural.
2. Se presentaron alteraciones en los sistemas contráctil y sarcotubular de las fibras musculares esqueléticas en las tilapias estudiadas del Lago de Valencia.
3. Se evidenciaron cambios en mitocondrias e inclusiones sarcoplasmáticas.
4. En las muestras analizadas se evidencian daños en la capa mielínica de los nervios motores (desmielinización).
5. El análisis de las fibras musculares esqueléticas de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) procedentes del Lago de Valencia, mostró alteraciones compatibles con etapas de atrofia y necrosis segmentaria, siendo el primer proceso similar al que ocurre en la atrofia neurogénica. Con esta última se compartió, en el caso de Tilapia, el daño al nervio motor que estuvo constituido por un proceso de desmielinización.
6. Las alteraciones observadas en el proceso de necrosis segmentaria se originaron como en enfermedades autoinmunes y con compromiso autoinmune, con la ruptura del sarcolema, quedando el contenido del sarcoplasma de la fibra en contacto con el material extracelular.
7. Se apreciaron anomalías en los capilares intramusculares, pero éstas no se acompañaron con la necrosis, lo que es

distinto a lo señalado para enfermedades autoinmunes y con compromiso autoinmune.

8. Se sugiere que las alteraciones observadas en la musculatura esquelética de tilapias procedentes del Lago de Valencia, podrían estar relacionadas con la presencia de algunos metales pesados, conocidos por su toxicidad en los vertebrados, aún cuando su contenido está por debajo de lo permitido de acuerdo a las normas COVENIN; concomitantemente, las anormalidades encontradas, podrían estar asociadas a condiciones tisulares de hipoxia, dada la insuficiencia de oxígeno disuelto en esas aguas.

9. El uso de la Microscopia Electrónica de Transmisión resultó de gran utilidad en la identificación de anormalidades estructurales en las muestras de los peces expuestos a los contaminantes del lago de Valencia.

RECOMENDACIONES

* Se sugiere realizar estudios de la ultraestructura muscular esquelética de Tilapia, criada bajo condiciones controladas de:

- a. Insuficiencia de Oxígeno en el agua
- b. Exposición a metales pesados

A fin de comparar y complementar los resultados obtenidos en el presente trabajo.

* Se recomiendan investigaciones que evalúen la influencia de las alteraciones del sistema hormonal y su relación con posibles cambios en el sistema muscular esquelético, de peces de interés comercial.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- ❖ Acuña, J., 2009. Evaluación del contenido de aminoácidos en guabina (*Hoplias malabaricus*, Bloch, 1794), capturadas en el Embalse Hipertrófico de Suata (Edo. Aragua). Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- ❖ Arú, R., 2008. Estudio del contenido de metales pesados en aguas y peces del embalse Suata- Estado Aragua. Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- ❖ Camero, L. y Finol, H., 2005. Efectos de la toxicidad del cadmio divalente sobre la ultraestructura de la musculatura esquelética de *Poecilia reticulata* (Antheriniformes: Poeciliidae). LV Convención Anual de AsoVAC, 20-25 de noviembre de 2005.
- ❖ Capecchi, M. F. 1994. Algunos aspectos relacionados al cultivo de la cachama y tilapia. II. Taller sobre peces de aguas cálidas. FONAIAP-Portuguesa. Centro de Cooperación Tecnológica de las Universidades y Sector Productivo. Convenio FEDEAGRO-CECOTUP-FCA. s.p.
- ❖ Codex Alimentarius. 2007 Norma general de codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos. Codex Stan 193-1995. Rev 3-2007.
- ❖ COVENIN 1776, Norma Venezolana 1995. Atún en conserva. Tercera revisión.

- ❖ COVENIN 1087, Norma Venezolana, 1998. Sardinas en conserva. Quinta revisión.
- ❖ Cullen, M., Mastaglia, F., 1982. Pathological reactions of skeletal muscle. En: *Skeletal Muscle Pathology*. Mastaglia, F.L. and Walton, J. E.. Churchill Livingstone. Edinburgh, London Melbourne and New York. pp 88-133.
- ❖ DeGirolami, U., Smith, T., 1982. Origin and significance of small muscle fibres in neuromuscular disease. [*Virchows Archiv.*](#) **410**, [Number 2](#), 113-118.
- ❖ Demerdash, F., Elagamy, E., 1999. Biological effect in *Tilapia nilotica* fish as indicators of pollution by cadmium and mercury. *Int. J. of Env. Health Res.*, **9**: 173-186. Tomado de: Acuña, J. 2009. Evaluación del contenido de aminoácidos en guabinas (*Hoplias malabaricus*, Bloch, 1794), capturadas en el Embalse Hipertrófico de Suata (Edo. Aragua). Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- ❖ Decreto 883, (1995) Gaceta Oficial Extraordinaria 5.021 del 28 de diciembre de 1995.
- ❖ Decreto 3.219, (1999). Normas para la Clasificación y Control de Calidad de las aguas de la cuenca del Lago de Valencia. Gaceta Oficial Extraordinaria de Venezuela 5.021.
- ❖ Esteves, F., 1998. Fundamentos de Limnología. 2ª Ed. Editora Interciencia, Ltda. Rio de Janeiro, 602.

- ❖ FAO, 1997. Aquaculture Production Statistics. FAO Fisheries Circular N° 815. Revisión 9. 195.
- ❖ Filazi, A., Bascaya, R., Kumand, C., Hismiogullari, S., 2003. Metal concentrations in tissues of the Black Sea fish *Mugil arauratus* from Sinop-Icliman, Turkey. *Human Exp. Toxicol.* **22**: 85-87.
- ❖ Finol, H. J., 1980. Efectos de la desnervación sobre la ultraestructura de un músculo rápido de la rata. *Acta Cient. Venez.*, **31**: 229-239.
- ❖ Finol, H. J., 1986. Contribución al Estudio de la Ultraestructura del músculo esquelético enfermo. Trabajo de Ascenso para optar a la categoría de Profesor Titular. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Caracas. Venezuela.
- ❖ Finol, H.J., 2006. Neurotomía y reinervación muscular: aspectos ultraestructurales y dinámicos de la degeneración y la regeneración muscular. Seminario Ingeniería Biomédica. Prótesis y Biomateriales, Simulación y Computación, Instrumentación Biomédica y Bioimpedancia. Publicaciones de la Comisión de Estudios Interdisciplinarios. Publicaciones. Año 9, N° 25, pp. 15-29.
- ❖ Finol, H.J., Márquez, A., Montes de Oca, I., Muller, B., Rivera, H., 1992. Muscle ultrastructure in some autoimmune nervous diseases. *Acta microsc.*, **1**, N° 2, 55-62.
- ❖ Finol, H. J., Muller, B., Montes De Oca, I., Márquez, A., 1988. Ultraestructura of skeletal muscle in rheumatoid myositis. *J. Rheumatol.*, **15**, 552-555

- ❖ Finol, H.J., Tonino, P., Márquez, A., Correa, M., Muller, B., Sosa, L., 1997. Microvascular pathology in the skeletal muscle paraneoplastic phenomenon. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* **29** (3), 329-334.
- ❖ Ghazaly, K.S., 1992. Hematological and physiological responses to sublethal concentration of cadmium in freshwater teleost *Tilapia zilli*. *Water, Air Soil Poll.*, **64**: 551-559
- ❖ Ginez, A., Olivo, M., 1984. Inventarios de los embalses con información básica para la actividad piscícola. I. Sinopsis de los embalses administrados por el MARNR. Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables. Serie Informes Técnicos DGSP/AIT/183. Caracas, 142 p.
- ❖ González, A., 2010. Composición química y disponibilidad ambiental de los elementos en los sedimentos del lago de Valencia, Edo. Aragua y Edo. Carabobo. Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- ❖ González, E., Álvarez, M., Barrero, M., Finol, H., 2009. Limnología y Efecto de los impactos antropocénicos sobre los peces de interés comercial del Embalse de Suata (Edo. Aragua) y del Lago de Valencia (Edos. Aragua y Carabobo). Informe Etapa I. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, UCV.
- ❖ Huang, T.L., Obih, P.O., Jaiswal, R., Hartley, W.R., Thiagarajah, A., 1997. Evaluation of liver and brain esterases in the spotted garfish (*Lepisosteus oculatus*) as biomarkers of effect in the

lower Mississippi river basin. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **58**: 688-695.

❖ Infante, A. 1997. Primary production of phytoplankton in Lake Valencia (Venezuela). *Int. Revue Ges. Hydrobiol.* **82**: 469-477

❖ Infante, A. 1998. El plancton de las aguas continentales. Secretaria General de la Organización de los Estados Unidos Americanos. Serie de Biología. Monografía 33. Washington DC, EEUU. **1**:129-130.

❖ Infante Y., 1999. Análisis químico de aminoácidos, ácidos grasos y carbohidratos en muestras de pargo diente *Lutjanus griseus*. Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

❖ Jory, D., Cabrera, T., Polanco, B., Sánchez, R., Millán, J., Rosas, J., Alceste, C., y col., 1999. Aquaculture in Venezuela: perspectives. *Aquac. Mag.* **25** (5): 55-59.

❖ Lakshmi, R., Kundu, R., Thomas, E., Mansura, A., 1991. Mercury chloride induced inhibition of acid and alkaline phosphatase activity in the kidney of mudskipper, *Boleophthalmus dentatus*. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, **19**: 341-344.

❖ López, C., Villalobos, M., González, E., 2001. Estudio sobre el zooplancton de los embalses de Venezuela: Estado actual y recomendaciones para futuras investigaciones. *Ciencia*, **9**: 217-234.

- ❖ Luengo, J. A., 1963. La fauna ictiológica del Lago de Valencia (Venezuela) y algunas consideraciones sobre las demás hoyas del país y Trinidad. *Acta Biol. Venez.* **3**:319-339.
- ❖ Márquez, A., Finol, H.J., De Blanco, M.C., Adjounian, H., Pulido-Méndez, M., 2001. Skeletal muscle microvascular alterations in euthyroid and hypothyroid patients with autoimmune Thyroid disease. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, **33**:4, 425-432.
- ❖ Nadorfy-López, E., Torres, S., Finol, H., Méndez, M., Bello, B., 2000. Skeletal muscle abnormalities associated with occupational exposure to mercury vapours. *Histol. Histopathol.* **15**: 673-682.
- ❖ Nuñez, J., Weibezahn, F., 1986. Repartición de recursos alimentarios entre dos especies de peces sub-litorales, *Aequidens pulcher* (Gill) y *Geophagus surinamensis* (Block) en el Lago de Valencia. *Acta Biol. Venez.* **12**(2):24-33.
- ❖ Páez, R., Ruiz, G., Márquez, R., Soto, L., Montiel, M., López, C., 2001. Limnological studies on a shallow reservoir in western Venezuela (Tulé reservoir). *Limnologica*, **31**: 139-145.
- ❖ Palma, G., 2009. Evaluación del contenido de metales pesados en agua y peces del lago de Valencia. Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- ❖ SARPA, 1995. La Agricultura en Venezuela: Una alternativa de desarrollo. Ministerio de Agricultura y Cría. Servicio Autónomo de los Recursos Pesqueros y Acuicola. 320.

- ❖ Segnini, M., Medina, J., Marcano, S., Boada-Sucre, A., Finol, H., 2005. Efectos del herbicida 2-cloro-2,6-Bis-Etilamina-S-Triazina, sobre algunos tejidos de *Colossoma macroporum*. Bol. Inst Oceanog. Venezuela, Univ. Oriente. **44** (1): 51-57
- ❖ Segnini, M., Pereira, G., Finol, H. y Marcano, S. 2009. Cambios en la ultraestructura del músculo esquelético de *Cyprinodon Dearborni* inducidos por el extracto de *Fagara monophylla*. *Acta Microsc.*, **18**, (2), 85-88
- ❖ Storelli, M., Marcotrigiano, C., 2004. Content of mercury and cadmium in fish (*Thunnus alalunga*) and cephalopods (*Eledone moschata*) from the south-easter Mediterranean Sea”, *FOOT ADDIT CONTAM*, **21**: 1051-1056.
- ❖ United States Enviromental Protection Agency (EPA), 2006. National Recommended Water Criteria.
- ❖ Villar, J., 2011. Ultraestructura del músculo esquelético en pacientes con Tiroiditis. Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- ❖ Ziegler, K., 2010. Distribución espacial y variación estacional del contenido de los metales pesados: cd, cr, cu, hg, ni, y pb en aguas y peces del lago de valencia. Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

Consultas en Línea:

- ❖ Nirchio, M., y Perez, J., 2002. Riesgos del cultivo de tilapias en Venezuela. *INCI*. [online], **27**, no.1 [consulta: 18 Marzo 2010], p.39-44. Disponible en la World Wide Web:
<http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442002000100007&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0378-1844.) (consulta: 10 de agosto de 2010).

- ❖ Poot, C., 2010. Biotecnología del cultivo de tilapia. Manejo integral, usos y aplicaciones. Disponible en World Wide Web:
<http://www.scribd.com/doc/35664628/BIOTECNOLOGIA-TILAPIA>.
(Consulta: 09 de febrero de 2011).

Apéndice

MÚSCULO ESQUELÉTICO. ORGANIZACIÓN CELULAR. TIPOS DE FIBRAS

Organización celular

El músculo esquelético es considerado un verdadero sincitio anatómico, pues cada célula presenta múltiples núcleos, originada por la fusión de múltiples células. Estas células presentan ramificaciones y fibras de interconexión. El sincitio del [músculo esquelético](#) es importante porque permite una rápida contracción coordinada de los músculos en toda su longitud. El [potencial de acción](#) se propaga a lo largo de la superficie de la fibra muscular desde el punto de [contacto sináptico](#) con la [neurona motora](#).

La disposición multinucleada del músculo esquelético (sincitio) es importante en estados patológicos como la [miopatía](#), donde los focos de [necrosis](#) (muerte) de una parte de una célula del músculo esquelético no resulta en la necrosis de las secciones adyacentes a esa misma célula, porque estas regiones tienen su propio material nuclear. Por lo tanto, la miopatía generalmente se asocia con tales "necrosis segmentarias", aunque algunos de los segmentos supervivientes estén funcionalmente separados de su inervación a través de la pérdida de continuidad con la [unión neuromuscular](#).

Núcleos

Frente a lo que sucede en las otras células del organismo, la célula muscular posee varios núcleos (multinucleada). Resulta de la fusión de células con un único núcleo (mononucleadas): los mioblastos (durante el desarrollo embrionario) o las células satélite (durante la regeneración después del nacimiento). La fibra muscular madura (multinucleada) contiene múltiples núcleos dispuestos en la periferia de la [célula](#).

Sarcolema

La fibra muscular está rodeada por una membrana: el sarcolema. Ésta presenta finas invaginaciones tubulares (túbulos transversos o túbulos T) distribuidas regularmente a lo largo de la fibra muscular en la que penetra profundamente.

Sarcoplasma

El [citoplasma](#) de la fibra muscular, denominado sarcoplasma, contiene las organelas responsables de su funcionamiento (retículo endoplásmico, mitocondrias) y el citoesqueleto. En el sarcoplasma, se encuentran reservas importantes de [glucógeno](#) («combustible» de la célula muscular), así como la [mioglobina](#) (proveedor de [oxígeno](#) de la célula muscular).

Retículo endoplasmático liso y túbulo T

La fibra muscular posee un retículo sarcoplásmico (RS) liso especialmente desarrollado. Éste forma extensiones de tal modo que dos bolsas de retículo sarcoplásmico rodean cada túbulo T para formar una tríada. La tríada es la estructura que permite el paso de la señal nerviosa (potencial de acción) durante la liberación del [calcio](#) a partir del RS, es decir, el acoplamiento de la excitación a la contracción.

Miofilamentos

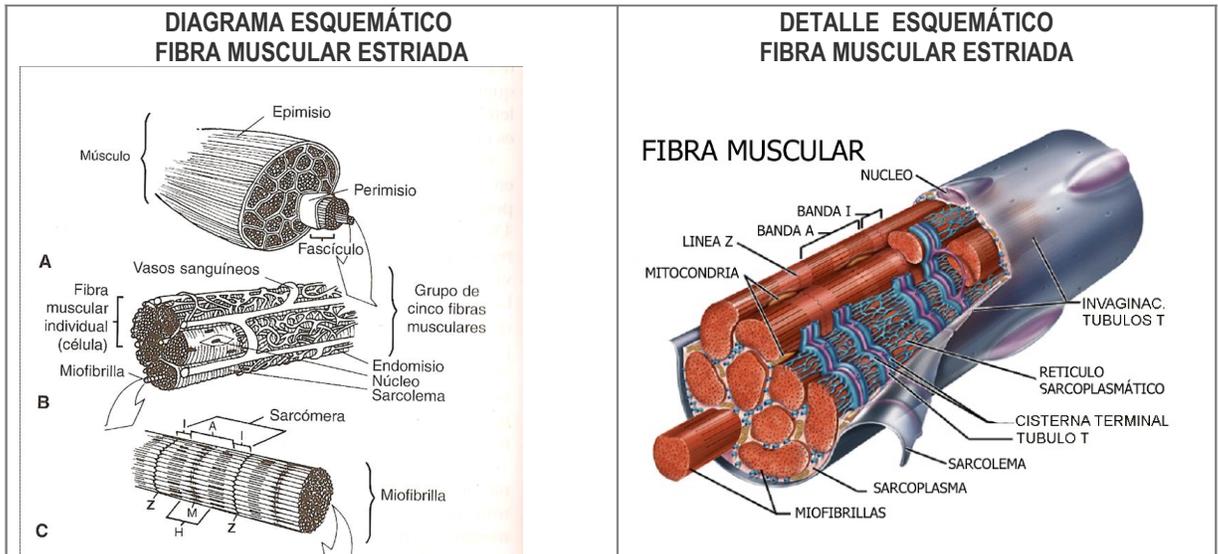
En las moléculas, las estrías de las miofibrillas están formadas por una disposición ordenada de dos tipos de filamentos de [proteína](#) o miofilamentos en el sarcómero. Los filamentos gruesos están formados por moléculas de [miosina](#). Los filamentos finos están formados principalmente por [actina](#).

Mitocondrias

El músculo es una verdadera fábrica metabólica que consume energía. El sarcoplasma de una fibra muscular contiene numerosísimas mitocondrias. Son las que producen energía ([ATP](#)) directamente utilizable por la fibra muscular para contraer sus miofibrillas.

Miofibrillas

Las miofibrillas son un constituyente [citoplasmático](#) de las [células](#) musculares ([miocitos](#)). Son filamentos delgados que se encuentran en el citoplasma de las fibras musculares e inclusive se pueden encontrar alrededor de 2.000 miofibrillas (del prefijo mio que significa "músculo"). Se extienden de un extremo a otro de la [fibra muscular](#), donde se encuentran agrupadas en haces. Son pequeñas unidades estructurales y funcionales de la fibra muscular. Estas últimas no presentan envolturas y los espacios entre ellas están ocupados por el citoplasma de la fibra muscular, llamado [sarcoplasma](#), que contiene [núcleos](#) y [mitocondrias](#), y a través del cual transcurre una red tubulomembranosa que desempeña un rol importante en el proceso de excitación-contracción, denominado sistema sarcotubular. Este sistema está formado por un sistema T y un [retículo sarcoplasmático](#). El sistema T de túbulos transversos, que es continuo con el [sarcolema](#) de la fibra muscular, forma una rejilla perforada sobre la superficie de las fibras musculares individuales. La función del sistema T es la transmisión rápida del [potencial de acción](#) desde la [membrana celular](#) a todas las miofibrillas contenidas en la fibra muscular. La contracción de una fibra muscular requiere de la contracción simultánea de todas sus miofibrillas.



Las miofibrillas tienen aspecto diferente en el [músculo liso](#) y [estriado](#).

Fibra muscular lisa: las miofibrillas son las que se contraen, y esta contracción suele ser muy lenta.

Fibra muscular estriada: el [protoplasma](#) de dicha fibra ha sufrido una gran transformación y se ha dividido en numerosas fibrillas longitudinales (aproximadamente 10.000 en las fibras humanas). La unión de estas fibrillas comunica a la fibra una estriación longitudinal semejante a la que ofrece un haz de alambres.

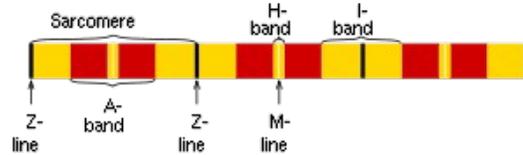
Cada fibra es una [célula](#) multinucleada (partiendo de un núcleo se dividen en muchos que pueden encontrarse hasta en la zona periférica); las fibrillas o miofibrillas constituyen "diferenciaciones citoplasmáticas".

Examinada con un [microscopio](#) de gran aumento, cada fibrilla aparece formada por una serie de discos apilados que son alternativamente claros y oscuros; los discos oscuros son contráctiles y los discos claros son elásticos. Como en una vista longitudinal de la fibra todos los discos claros se corresponden y también los discos oscuros. El conjunto de la fibra ofrece una estriación transversal.

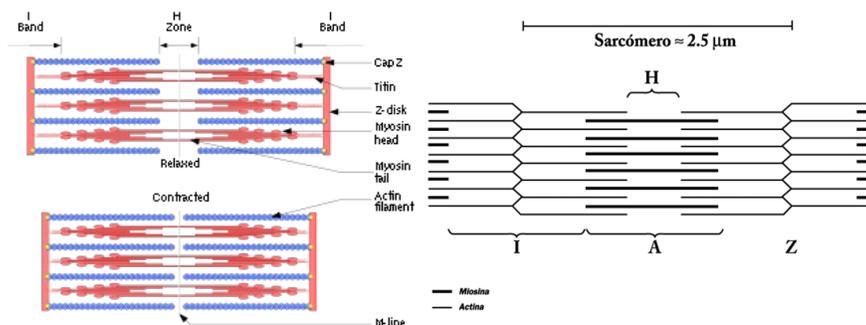
Cada miofibrilla consta de múltiples [miofilamentos](#) que son unas hebras delgadas o gruesas compuestas químicamente de dos [proteínas](#) especiales: [actina](#) y [miosina](#). Los miofilamentos de una miofibrilla no abarcan toda la extensión de la fibra muscular sino que se dividen en compartimentos llamados sarcómeros.

La agrupación de miofilamentos delgados o de actina forman las bandas transversales claras de una miofibrilla y la agrupación de las segundas o de miosina, las bandas oscuras. Las primeras se conocen también como [bandas I](#) y las segundas como [bandas A](#). Estas bandas se alternan. Las bandas I y A en conjunto se denominan [sarcómero](#). Además de la actina, los miofilamentos delgados tienen otras dos moléculas de proteína que son [tropomiosina](#) y [troponina](#), que intervienen en la regulación de las [contracciones musculares](#).

Diagrama de la estructura de una miofibrilla:



Modelo del deslizamiento filamentoso en el proceso de [contracción muscular](#):



Una sarcómera está separada de las otras por zonas angostas de material denso que son las [líneas Z](#). Los filamentos delgados se fijan en las líneas Z y se proyectan en ambas direcciones. Además de actina, los miofilamentos delgados contienen otros dos tipos de [proteína](#) así como sitios receptores de miosina. Cada filamento de miosina posee unas pequeñas proyecciones denominadas puentes, las cuales al interactuar con los [filamentos de actina](#), producen la contracción. Los miofilamentos gruesos se interdigitan con los extremos libres de los miofilamentos delgados y ocupan la banda A de la sarcómera. En la mitad de esta banda se aprecia la zona H. Las moléculas de miosina que las integran, tienen zonas por las cuales pueden unirse a las moléculas de actina y otras, al [ATP](#). Contenido de las miofibrillas

Las miofibrillas están rodeadas de un fluido intracelular llamado [sarcoplasma](#), que contiene ATP, [enzimas](#), [proteínas](#), [mioglobina](#), [lípidos](#), [minerales](#), etc. Dentro de las miofibrillas hay gránulos de [glucógeno](#), mioglobina, lípidos, sustancias ricas en energía ([fosfocreatina](#)) y proteínas contráctiles que forman parte de las manchas claras y oscuras. A continuación se indican los principales componentes de las miofibrillas:

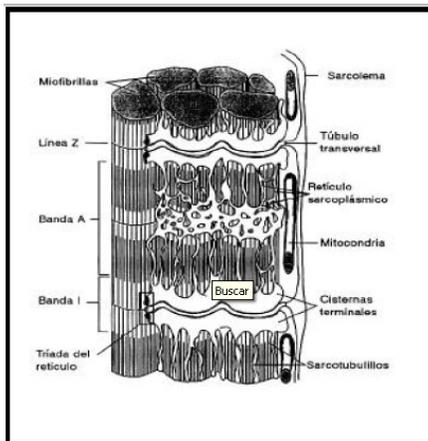
Bandas claras: tienen una línea más oscura o Z (proteína contráctil). El espacio entre dos líneas Z se denomina sarcómero y constituye la unidad funcional del [tejido muscular](#). Línea H: es una proteína contráctil. Banda I: está compuesta de 3 proteínas: [actina](#), [troponina](#) y [tropomiosina](#). Banda A: está compuesta de [miosina](#). Proteínas

contráctiles: Miosina: filamento grueso de la banda A. Proteína con dos cadenas polipeptídicas. Con diámetro de 150 [micrómetros](#) y longitud de 1,6 [nanómetros](#). Actina, tropomiosina y troponina: son proteínas de contracción rápida y constituyen el filamento delgado. Funciones La capacidad contráctil de la [célula](#) o "fibras" muscular es un caso particular de la capacidad contráctil de elementos fibrilares y globulares constitutivos del [citoesqueleto](#) de la célula.

En comparación con otros [tejidos](#), el [muscular](#) es un caso de alta especialización y complejidad contráctil.

No se trata sólo del movimiento aislado de células, sino de una acción sincronizada y secuencial de contracciones que involucran a todo el [tejido](#).

En el músculo esquelético, cada miofibrilla está rodeada de un elaborado sistema de membranas lisas que corresponden al retículo sarcoplásmico. Estas membranas están alineadas en forma precisa con respecto al patrón de bandeado de las miofibrillas. En la zona de unión de la banda A con la banda I el retículo sarcoplásmico se expande para formar las cisternas terminales. Las 2 cisternas terminales paralelas se asocian estrechamente a un tubo transversal (T), formando un complejo denominado tríada (Figs. 1 y 2).



Representación esquemática de la estructura de las fibras musculares (esquema tomado de Bloom y Fawcett 1996). Representación de la estructura microscópica.

Figura 1

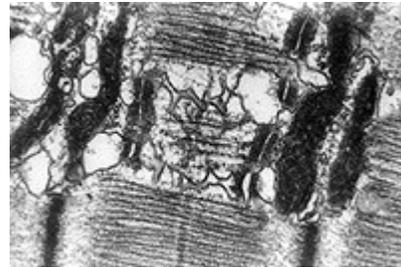


Figura 2

El sistema de tubos T (Figs 3 y 4), está formado por numerosos túbulos continuos con la membrana plasmática (sarcolema) de la célula muscular. Cada uno de estos túbulos corre transversalmente entre 2 cisternas terminales. Aunque las cisternas terminales y el túbulo T están físicamente separados, el espacio entre ellos aparece ocupado regularmente por estructuras que se asocian estrechamente a la membrana de ambos sistemas. La contracción de una fibra muscular requiere de la contracción simultánea de todas sus miofibrillas. La forma y distribución del sistema T permite que la onda de depolarización, responsable de la contracción muscular, se distribuya rápidamente desde la superficie celular hacia el interior del citoplasma alcanzando a cada miofibrilla.

La depolarización de la membrana plasmática de la célula muscular, que se propaga a lo largo de los túbulos T, produce la apertura de canales de Ca^{++} en la membrana del retículo sarcoplásmico y la liberación de Ca^{++} hacia el citosol. Se piensa que la onda de depolarización induce un cambio conformacional en proteínas sensoras del túbulo T, que se transmite directamente a la proteína que forma los canales de Ca^{++} del retículo sarcoplásmico.

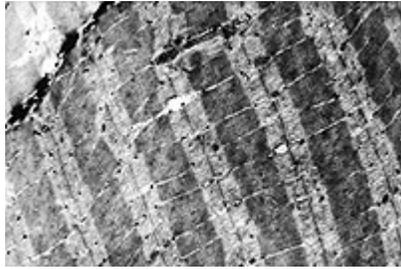


Figura 3

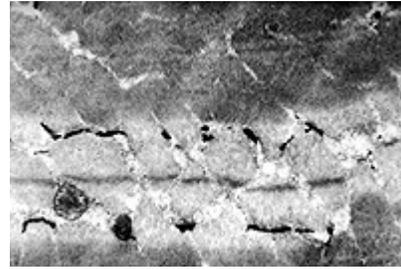


Figura 4

Tipos de fibras musculares

Fibras de tipo I de contracción lenta o fibras rojas

Son numerosas en los músculos rojos. Estas fibras, de pequeño diámetro y muy vascularizadas, ricas en mioglobina, contienen numerosas mitocondrias y poco **glucógeno**. Las fibras I son resistentes a la fatiga: se utilizan sobre todo en ejercicios poco enérgicos y prolongados (mantenimiento de la postura).

Fibras de tipo II de contracción rápida

Se localizan en los músculos pálidos y se denominan también fibras blancas. Son de mayor diámetro, presentan pocas mitocondrias, están poco vascularizadas pero contienen mucho glucógeno. Estas fibras, que son poco resistentes a la fatiga aunque muy potentes, se utilizan en los ejercicios breves pero intensos.

Fibras de tipo Ila

Son fibras intermedias cuyo porcentaje varía según los músculos del organismo y el individuo. La relación fibras lentas/rápidas puede evolucionar en función del entrenamiento y el tipo de ejercicio practicado. Numerosas fibras Ila o intermedias evolucionan hacia el tipo I a consecuencia de ejercicios prolongados y moderados (entrenamiento de fuerza). En cambio, los ejercicios breves e intensos, de 30 segundos a 2 minutos (entrenamiento de resistencia), provocan la evolución de las fibras Ila hacia el tipo II (fibras rápidas).

Clasificación	Tipos		
	Rojas	Blancas	
Primera			
Segunda	Lentas oxidativas	Oxidativas-Glucolíticas	Rápidas glucolíticas
Tercera	Tipo I	Tipo IIa	Tipo IIb
Características			
Velocidad de contracción	Lenta	Rápida	Rápida
Fuerza de contracción	Baja	Alta	Alta
Fatigabilidad	Fatigable - resistente	Fatigable	Más fatigable
Capacidad aeróbica	Alta	Media	Baja
Cap. anaeróbica	Baja	Media	Alta
Tamaño	Pequeño	Las más largas	Largas
Densidad capilares	Alta	Alta	Baja