



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

Efecto de glifosato sobre la salud de la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en su etapa juvenil.

**PEREZ QUINDE PAMELA PATRICIA
INGENIERA ACUICOLA**

**MILLAN GUERRERO CELIA TATIANA
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA
2023**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

Efecto de glifosato sobre la salud de la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en su etapa juvenil.

**PEREZ QUINDE PAMELA PATRICIA
INGENIERA ACUICOLA**

**MILLAN GUERRERO CELIA TATIANA
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA
2023**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Efecto de glifosato sobre la salud de la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en su etapa juvenil.

**PEREZ QUINDE PAMELA PATRICIA
INGENIERA ACUICOLA**

**MILLAN GUERRERO CELIA TATIANA
INGENIERA ACUICOLA**

SORROZA OCHOA LITA SCARLETT

**MACHALA
2023**

Tesis

INFORME DE ORIGINALIDAD

1 %	1 %	1 %	0 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe	1 %
	Fuente de Internet	

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Las que suscriben, PEREZ QUINDE PAMELA PATRICIA y MILLAN GUERRERO CELIA TATIANA, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado Efecto de glifosato sobre la salud de la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en su etapa juvenil., otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Las autoras declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Las autoras como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



PEREZ QUINDE PAMELA PATRICIA

0706566726



MILLAN GUERRERO CELIA TATIANA

2300276983

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer en primer lugar a Dios, por guiarme en el camino y fortalecerme en esos momentos tan difíciles y asimismo por darme una oportunidad de empezar un camino lleno de éxito.

A mí amada hija Karelys por ser fuente de motivación e inspiración, mi motor de arranque para poder superarme cada día, quiero agradecer a la base de todo, a mi familia, en especial a mi madre, que quienes con sus consejos y mi constante motivación son los que me permitido cumplir mis sueños.

Muestro mis más sinceros agradecimientos a mi tutora de proyecto, la Dra. Lita Sorroza quien con su conocimiento y su guía fue una parte esencial para que pudiese desarrollar una clave de hechos que fueron imprescindibles para cada etapa de desarrollo del trabajo.

Agradezco profundamente al Dr. Roberto Santacruz Reyes, por su orientación experta, al Dr. Maurio Nircho Tursellino, Dr. Robert Sánchez, por sus valiosos aportes y comentarios que enriquecieron nuestra investigación, asimismo agradecerle al Dr. Patricio Velásquez López, su compromiso con la excelencia académica ha sido una inspiración constante.

Así, quiero mostrar mi gratitud a mis amigos que estuvieron presentes en la realización de esta meta, de este sueño que es tan importante para mí, agradecer todas sus ayudas, sus palabras motivadoras, sus conocimientos, sus consejos y su dedicación.

Celia Tatiana Millán Guerrero.

En primer lugar, mi profundo agradecimiento a Dios por permitirme tener la oportunidad de llevar a cabo este proyecto y por darme las fuerzas necesarias para superar cualquier obstáculo que se presentó en el camino.

A mi familia, quienes me brindaron su amor incondicional, apoyo y comprensión durante todo este tiempo. Su confianza en mi capacidad de lograr mis metas ha sido una fuente inagotable de motivación y ha significado el mayor de los incentivos para mí.

A mi tutora, la Dra. Lita Sorroza Ochoa, quisiera expresar mi más sincero agradecimiento por su dedicación, paciencia y guía en el desarrollo de este trabajo. Sus conocimientos, experiencia y compromiso con mi formación académica fueron esenciales para el éxito de este proyecto.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento al Dr. Roberto Santacruz Reyes, al Dr. Mauricio Nircho Tursellino, Dr. Patricio Velásquez López y al Dr. Robert Sánchez por su generosidad al compartir sus vastos conocimientos y experiencia. Su apoyo y orientación han sido esenciales en el desarrollo de esta investigación, brindándome la inspiración y la dirección necesarias para alcanzar mis objetivos académicos. Al Econ. Víctor Garzón Montealegre por sus conocimientos brindados en el área estadística.

Por último, no puedo dejar de agradecer a todas las personas que, de alguna u otra forma, han contribuido a mi formación y al logro de este importante objetivo. Gracias a todos por su apoyo, orientación y por creer en mí.

Pamela Patricia Pérez Quinde

DEDICATORIA

A mi madre, mi hija y hermanos les dedico todo mi esfuerzo y trabajo quienes a lo largo de su vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Sin ellos jamás hubiese podido conseguir lo que tengo hasta ahora, los amo con mi vida.

Celia Tatiana Millán Guerrero.

A mis padres, y hermanas quienes han sido la mayor influencia en mi vida y la razón de este logro. Su amor incondicional, dedicación y apoyo han sido la base de todo lo que he logrado hasta ahora. Cada paso que he dado en mi camino ha sido guiado por su sabiduría y experiencia, y me siento muy agradecido por todo lo que han hecho por mí.

Pamela Patricia Pérez Quinde

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	I
DEDICATORIA	III
RESUMEN	XII
ABSTRACT	XIV
1 CAPITULO I	16
1.1 INTRODUCCIÓN	16
1.2 PROBLEMÁTICA.....	18
1.3 JUSTIFICACIÓN	19
1.4 OBJETIVOS	20
1.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	20
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
1.5 HIPÓTESIS.....	20
CAPÍTULO II:	21
2. MARCO REFERENCIAL	21
2.1 Cultivo de peces dulceacuícolas.	21
2.2 Piscicultura	21
2.3 Interés comercial de la tilapia.	22
2.4 Producción mundial de tilapia.....	23
2.5 Cultivo de tilapia.....	24
2.6 Introducción de la tilapia en el Ecuador.....	24
2.7 Cultivo de tilapia en Ecuador.....	25
2.8 Biología de la especie.....	26
2.8.1 Morfología externa	26
2.8.2 Hábitat de la tilapia.	27

2.8.3	Dimorfismo sexual.....	28
2.8.4	Características sexuales en la especie.....	28
2.8.5	Reproducción.....	28
2.8.6	Reversión sexual.....	29
2.9	Requerimientos medioambientales	30
2.10	Calidad del agua.....	30
2.10.1	Temperatura	30
2.10.2	Oxígeno disuelto	30
2.10.3	pH.....	31
2.11	Alimentación	31
2.12	Crecimiento	31
2.13	Plaguicidas.....	32
2.14	Contaminantes en el agua por plaguicidas	32
2.15	Clasificación de los plaguicidas	32
2.15.1	Según su composición química.....	32
2.15.2	Clasificación de plaguicidas basada en el organismo o plaga que eliminan	33
2.16	Herbicida glifosato	33
2.17	Uso del glifosato	33
2.18	Efecto del glifosato en el ambiente.....	34
2.18.1	En el suelo.....	34
2.18.2	En el agua.....	35
2.18.3	Efectos sobre los ecosistemas acuáticos.	35
2.19	Daños en los organismos.....	36
2.19.1	Efecto del glifosato en la salud de los peces.....	36

2.19.2	Efectos en la sangre.	39
2.20	Eritrocitos	40
2.20.1	Análisis hematológico.....	41
2.20.2	Recuento de eritrocitos	41
2.20.3	Alteraciones en eritrocitos	42
CAPÍTULO III:.....		45
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1	Materiales y Equipos.....	45
3.2	Métodos.....	46
3.2.1	Ubicación del experimento	46
3.2.2	Obtención de los organismos.....	46
3.2.3	Aclimatación de los organismos.....	46
3.2.4	Preparación de los tratamientos	47
3.2.5	Experimento.....	48
3.2.6	Extracción de muestras de sangres para análisis hematológicos	48
3.2.7	Conteo de eritrocitos	48
3.2.8	Frotis sanguíneo.....	49
3.2.9	Porcentaje de eritrocitos deformes.....	49
3.3	Diseño experimental.....	50
3.4	Análisis estadístico.....	50
4.	RESULTADO Y DISCUSIÓN	52
4.1	Índice de supervivencia.....	52
4.2	Índice de número de eritrocitos.....	53
4.3	Porcentaje de eritrocitos con malformaciones	54
4.5	Índice de masa corporal	56

5.	CONCLUSIONES	60
6.	RECOMENDACIONES:	61
7.	BIBLIOGRAFÍA	62
8	ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones de glifosato utilizadas en los grupos de cada tratamiento	47
Tabla 2. Impacto de la concentración subletal de glifosato en el número de eritrocitos de la tilapia roja. Los valores son media \pm desviación estándar ($p < 0,05$).....	53
Tabla 3. Los porcentajes representan la proporción de glóbulos rojos con deformidades morfológicas en cada grupo de tratamiento después de seis semanas de exposición al herbicida GLY.	54
Tabla 4. Efecto del glifosato en el peso (g) de la tilapia roja en varios periodos de crecimiento. Los valores son media \pm desviación estándar ($p < 0,05$).	56
Tabla 5. Efecto del glifosato en la longitud (cm) de la tilapia roja en varios periodos de crecimiento. Los valores son media \pm desviación estándar ($p < 0,05$).	58

ÍNDICE DE FIGURA

Figure 1 Morfología externa de la tilapia.	27
Figure 2 Características sexuales entre hembra y macho.	28
Figure 3. Incubación de huevos.	29
Figure 4 Contaminación del ambiente por aplicación de glifosato.....	34
Figure 5. Área de estudio.....	46
Figure 6. Frotis sanguíneo de <i>Oreochromis sp.</i> , expuesto a dosis subletal de GLY. Eritrocitos con membrana citoplasmática normales (A), deformaciones de membrana celular (B). Tinción de Giemsa.	55

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Porcentaje de supervivencia en los directores tratamientos expuestos a glifosato durante un periodo de 6 semanas	52
Gráfica 2. Crecimiento en peso (g) de la tilapia roja expuestas a diferentes concentraciones de glifosatos durante un periodo de 6 semanas.....	57
Gráfica 3 Crecimiento en talla (cm) de la tilapia roja expuestas a diferentes concentraciones de glifosatos durante un periodo de 6 semanas.....	59

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Montaje del experimento	68
Anexo 2. Prueba de amonio con test colorimétrico.....	68
Anexo 3. Peso semanal.....	69
Anexo 4. Recambio de agua.	69
Anexo 5. Materiales para análisis de sangre.....	70
Anexo 6. Extracción de sangre para análisis.	70
Anexo 7. Muestras de sangre.....	71
Anexo 8. Frotis sanguíneo	71
Anexo 9. Aplicación de muestra en cámara Neubauer.....	72
Anexo 10. Conteo de número de eritrocitos.	72
Anexo 11. Morfología de eritrocitos.	73

RESUMEN

Uno de los herbicidas más populares es el glifosato dentro de sector agrícola, y debido a las descargas incontroladas de este producto en muchas ocasiones por influencia de las precipitaciones o el uso de aspersores para el riego, llegan residuos de este herbicida a ríos o zonas hídricas; donde luego estas fuentes de agua son tomadas para el cultivo de organismo acuáticos.

El presente trabajo consistió en evaluar el efecto del glifosato sobre la salud de la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en su etapa juvenil, mediante un bioensayo por un periodo de 42 días para determinar los efectos del herbicida sobre esta especie de pez, puesto que este herbicida es una sustancia toxica que puede poner el riesgo la salud de estos animales. Para el desarrollo experimental se establecieron concentración subletales de 25 mg/L y 50 mg/L y un tratamiento control el cual no contenía glifosato (0 mg/L). Se emplearon 27 juveniles de tilapia roja con un peso promedio de 50 g (*Oreochromis sp.*), estos fueron alimentados dos veces al día dependiendo de su biomasa. Los organismos fueron distribuidos de manera homogénea en los recipientes, cada tratamiento conto con dos replica colocando 3 peces por pecera. Para controlar los parámetros del agua y, mantener la concentración de glifosato en las unidades experimentales se realizaba un recambio del agua del 100% cada 2 días. Se tomaron medidas de peso (g) y longitud (cm) semanalmente para evaluar el crecimiento. El parámetro sanguíneo analizado fue el recuento de glóbulos rojos por sus siglas en inglés RBC. Y para determinar la supervivencia se evaluó el número final de animales vivos al culminar el experimento.

Los hallazgos de este estudio demostraron que la exposición del glifosato a dosis subletales de 25 mg/L y 50 mg/L durante 42 días fueron toxicas para los juveniles de tilapia roja. En cuanto al crecimiento se determinó que hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos, donde el mejor crecimiento se registró en el control (0 mg/L), mientras que el crecimiento más bajo fue en la dosis de 50 mg/L. En cuanto al parámetro sanguíneo se demostró que entre las dosis subletales de glifosato no existen diferencias significativas entre ellos ($p > 0,05$) pero ambas difieren estadísticamente del control el cual presente una media más alta en el RBC que los tratamientos expuestos al herbicida. Por otra parte, el índice de

supervivencia se mantuvo durante las 5 primeras semanas, sin embargo; se produjo una baja en el tratamiento de 50 mg/L en la semana 6 culminado el experimento con el porcentaje más bajo de supervivencia en relación a los otros tratamientos. Los hallazgos de este estudio demostraron que a dosis 25 mg/L y 50 mg/L de glifosato afecta la salud de la tilapia roja. Por ende, se recomienda trabajar en futuros experimentos con concentraciones < 25 mg/L para determinar cuál es la dosis más allá en la cual el glifosato no debería permitirse en instalaciones de producción acuícola.

Palabras claves: Glifosato, herbicida, eritrocitos, crecimiento, supervivencia, morfología.

ABSTRACT

One of the most popular herbicides is glyphosate in the agricultural sector, and due to uncontrolled discharges of this product, often influenced by precipitation or the use of sprinklers for irrigation, residues of this herbicide often end up in rivers or water bodies. These water sources are later used for the cultivation of aquatic organisms.

The present study aimed to assess the effect of glyphosate on the health of juvenile tilapia (*Oreochromis* sp.) over a 42-day period, to determine the impact of the herbicide on this fish species since this herbicide is a toxic substance that can endanger the health of these animals. For the experimental setup, sublethal concentrations of 25 mg/L and 50 mg/L were established, along with a control treatment that did not contain glyphosate (0 mg/L). Twenty-seven juvenile red tilapia with an average weight of 50 g (*Oreochromis* sp.) were used and were fed twice a day based on their biomass. The organisms were evenly distributed in containers, with three fish per tank for each treatment. To control water parameters and sustain the glyphosate concentration in the experimental units, 100% water exchange was conducted every 2 days. Measurements of weight (g) and length (cm) were taken weekly to evaluate growth. The analyzed blood parameter was red blood cell count (RBC). Survival was determined by assessing the final number of live animals at the end of the experiment.

The findings of this study demonstrated that exposure to glyphosate at sublethal doses of 25 mg/L and 50 mg/L for 42 days was toxic to juvenile red tilapia. Regarding growth, significant differences ($p < 0.05$) were observed between the treatments, with the best growth recorded in the control (0 mg/L), while the lowest weekly growth average was recorded at 50 mg/L. Concerning the blood parameter, it was shown that there were no significant differences ($p > 0.05$) between the sublethal glyphosate doses, but both differed statistically from the control, which had a higher mean number of RBCs than the herbicide-exposed treatments. Additionally, the survival rate remained stable during the first 5 weeks; however, a decline was observed in the 50 mg/L treatment in the 6th week, resulting in the lowest survival rate compared to the other treatments at the end of the experiment. The findings of this study demonstrated that glyphosate at doses of 25 mg/L and 50 mg/L negatively affects the health of red tilapia. Therefore, it is recommended to conduct future experiments with concentrations < 25 mg/L to determine the threshold beyond which glyphosate should not be allowed in aquaculture production facilities.

Keywords: Glyphosate, herbicide, erythrocytes, growth, survival, morphology.

1 CAPITULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

La acuicultura se desarrolla a nivel mundial, abarcando tanto ecosistemas marinos como dulceacuícolas y aguas salobres. Además, se emplean más de 500 especies y su huella de carbono al igual que de agua es muy baja en comparación con otras actividades productivas. La eficiencia en la producción de especies acuáticas cultivadas es mayor, ya que los insumos adicionados para su crecimiento se convierten en alimentos altamente asimilables por los seres humanos (Berger, 2020). Los productos generados en la acuicultura incorporan una amplia gama de aminoácidos, minerales, ácidos grasos omega 3 y vitaminas, los cuales representan un beneficio para el desarrollo y cuidado de los sistemas nervioso, circulatorio e inmune, entre otros aportes nutricionales de alto valor.

La producción global acuícola continua con su incremento en 2020, a pesar de la expansión de la pandemia COVID-19. Sin embargo, se observa variaciones en zonas geográficas entre naciones que se dedican a la producción acuícola en cada área. La producción global de acuicultura abarca 87,5 millones de toneladas destinadas para el consumo humano, además de 35,1 millones de toneladas de algas comestibles y no comestibles y, 700 toneladas de moluscos y gemas ornamentales, para un total de 122,6 millones de toneladas de peso vivo en 2020. Esta cifra representa un aumento de 6,7 millones de toneladas en comparación con 115,9 millones de toneladas en 2018 (FAO, 2022).

La acuicultura y la pesca han sido establecidas a escala mundial como las principales fuentes de recursos económicos para las regiones que practican estas actividades. Esto proporciona alimentos para el consumo humano, empleo, y economía a los pueblos. En el año 2019 la producción mundial de proteína de origen animal alcanzó los 177,8 millones de toneladas, siendo el 48% representando por la acuicultura y el 52% por la pesca silvestre. En el cultivo de peces, el más comercializado a nivel mundial es la carpa seguido de la tilapia (Urías-Sotomayor *et al.*, 2022).

En todo el mundo, se han cultivado diversas especies acuáticas como el salmón, trucha, langostino, camarón, bagre y tilapia, con una tasa de incremento anual del 6,7% y una producción total de 90,4 millones de toneladas. La tilapia roja (*Oreochromis sp.*) ha sido especialmente significativa en la producción mundial, alcanzando una cantidad de más de un millón de toneladas. La mayoría de los productores de tilapia, que representan el 80% de la producción, se encuentran en países asiáticos, encabezados por China, seguido de Tailandia, Indonesia, Filipinas y Taiwán. En América, Ecuador, Colombia, Costa Rica y Honduras también producen y exportan tilapia (Méndez-Martínez *et al.*, 2018).

Los peces son un grupo ampliamente estudiado y se encuentran en todos los ecosistemas acuáticos del mundo, incluyendo cuevas sin luz y charcas en desiertos. Son sensibles a cambios ambientales y contaminación, lo que puede dañar su material genético, membranas celulares, hormonas y proteínas, así como tejidos como branquias, aletas y piel, y afectar su conducta, como la alimentación, reproducción, evasión de depredadores y búsqueda de refugios (Arce *et al.*, 2022).

Los peces cíclidos están expuestos a pesticidas y herbicidas como lindano, deltametrina y bifentrina, que provocan cambios físicos y de comportamiento como pérdida del equilibrio, velocidad de nado, hiperventilación y agresión. El carbofurano y la pendimetalina también son tóxicos para la tilapia y causan problemas de visión, dificultades en la caza y vulnerabilidad a los depredadores. Además, causa nado errático y movimientos rápidos del opérculo que hace que los peces se vuelven más inactivos con el tiempo (Arce *et al.*, 2022).

1.2 PROBLEMÁTICA

El uso de herbicidas es ampliamente utilizado en los cultivos agrícolas, el glifosato es utilizado para erradicar las malas hierbas en el cultivo de banano, es catalogado como un producto de acción rápida, que no se absorbe mediante las raíces, sino que actúa sobre el follaje, es decir ingresa a la planta mediante las hojas y posteriormente se desplaza a otras zonas del vegetal para eliminarlo. Su uso no tiene un protocolo estable de bioseguridad, por lo que en muchas ocasiones este termina en fuentes de agua natural, a través de las precipitaciones y también mediante el riego con el uso de aspersores, son arrastrados a los ecosistemas acuáticos siendo uno de los medios más perjudiciales para el cultivo de tilapia.

El uso del glifosato a gran escala puede provocar efectos nocivos en el agua, suelo, animales, plantas y al mismo ser humano. El glifosato además de ser un herbicida, tiene varios impactos negativos en el ecosistema y una de estas es que pueden ocasionar deterioro en la salud de los peces, el daño producido por el herbicida afecta el crecimiento de estos organismos. Se ha comprobado que, en la tilapia y otras especies de peces, provoca cambios histopatológicos en las branquias, alteraciones morfológicas en el núcleo de las células, asimismo reduce la producción de eritrocitos por lo que su sistema inmune se ve reducido, y por ende los organismos acuáticos tienden a ser más susceptibles a la adquisición de agentes infecciosos que ponen en riesgo la salud del animal.

1.3 JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que el uso de herbicidas (glifosato) es catalogado como un producto de acción rápida, en la agricultura, que tiene la capacidad de eliminar ciertos tipos de malezas, que perjudican la producción de cultivos agrícolas. Este proyecto de investigación tiene previsto examinar los efectos que ocasiona el glifosato en la salud de la tilapia, siendo este un herbicida de amplio espectro y que, con el uso inadecuado de este producto ocasiona serios problemas a los organismos que habitan en ambientes acuáticos.

Este estudio nos permitirá conocer qué concentraciones de glifosato pueden ser letales para los peces que se cultivan. Además, proporcionara un análisis exhaustivo del daño que el glifosato ha causado al medio ambiente debido al uso inadecuado del glifosato, a fin de colaborar con la concientización del uso correcto de estos herbicidas.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que estos estudios se han realizado en condiciones controladas en el laboratorio y no necesariamente reflejan los niveles de exposición a glifosato que pueden encontrar los peces en la vida real. Además, los efectos del glifosato en la tilapia pueden variar dependiendo de la dosis, la duración de la exposición y otros factores. Es necesario más investigación para determinar con certeza cómo el glifosato afecta la salud de la tilapia y otros peces.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto del glifosato sobre la salud de la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en su etapa juvenil, mediante un bioensayo por un periodo de 42 días, para determinar los efectos del herbicida sobre esta especie de pez.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la supervivencia de los organismos que fueron sometido a las concentraciones de glifosato.
- Determinar el número de células sanguíneas en los animales que fueron expuestos a las concentraciones de glifosato en relación a los animales de control.
- Evaluar el crecimiento de los organismos al finalizar el experimento de 42 días.

1.5 HIPÓTESIS.

- La exposición al glifosato tendrá efectos negativos en la salud de la tilapia roja en su etapa juvenil, reduciendo la supervivencia, el número de eritrocitos y el crecimiento de los peces.

CAPÍTULO II:

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 Cultivo de peces dulceacuícolas.

En 2020 la producción acuícola global registro un incremento del 2,7% en comparación con el año anterior, lo que representa el crecimiento más lento en las ultimas 4 décadas. Sin embargo, este incremento represento un total de 2,3 millones de toneladas en el mismo período, el mismo que hace unos años. Los peces de aleta cultivados, incluidas especies como la tilapia, el atún y el salmón, se han mantenido relativamente estables con una estimación del 67%, que representó la mayor proporción de la acuicultura global en décadas. En 2020, la producción pesquera rural total alcanzó los 57,5 millones de toneladas con un valor de 146,1 millones de dólares. La acuicultura continental añadió 49,1 millones de toneladas valoradas en 109,8 millones de dólares, mientras que cultivo de peces marinos y dulceacuícolas agregaron 8,3 millones de toneladas valoradas en 36,2 millones de dólares (FAO, 2022).

2.2 Piscicultura

El aumento constante de la población, especialmente en naciones en desarrollo, ha agravado la problemática mundial de la desnutrición, lo que hace imprescindible la búsqueda de soluciones eficaces para mitigar sus consecuencias negativas. La escasa oferta y la deficiente calidad de los alimentos son causas que contribuyen a agravar esta situación, al igual que la falta de proteína animal y su elevado coste en la mayoría de los mercados hacen necesario aumentar la producción, reducir los costes de producción y buscar alternativas de fuentes de proteína animal (Reyes, 2018). La piscicultura, consiste en la cría de peces en condiciones controladas hasta su comercialización, es una alternativa viable y eficiente para combatir este problema.

En la acuicultura continental sudamericana, las especies exóticas más comunes son la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*, la carpa *Cyprinus carpio* y la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, al igual que ocurre en otras partes del mundo. La tilapia del Nilo es particularmente

producida de forma intensiva, utilizando jaulas y una gran cantidad de insumos, lo que ha permitido que países como Brasil, Perú, Colombia y Ecuador se conviertan en importantes productores de esta especie de pez. Estos países han adoptado una tecnología completa para la producción de estas especies, que incluye aspectos como la nutrición, la reproducción, el control de enfermedades, y que está bien establecida en todo el mundo, lo que ha facilitado la producción en los países en desarrollo (Ramos *et al.*, 2016).

La expansión constante de la piscicultura se debe al estancamiento de la pesca, la cual no ha mostrado un aumento en el volumen de captura en las últimas décadas y, por el contrario, ha experimentado una disminución en la tasa de extracción de los recursos pesqueros debido a la sobreexplotación de los recursos acuáticos. La intensificación de la pesca ha permitido la captura de poblaciones enteras de peces, lo que ha llevado a la disminución de los recursos y a la pérdida del material genético de la especie. A esto se suma la creciente demanda mundial de productos acuícolas, que no puede ser satisfecha debido a la pérdida de los recursos renovables en aguas continentales y marinas causada por actividades humanas como la contaminación y cambios en los cursos de agua (Reyes, 2018).

2.3 Interés comercial de la tilapia

La tilapia es una especie que se considera ideal para el cultivo en todo el mundo debido a sus características, de las cuales se destacan: tasa de crecimiento rápida, una eficiente conversión alimenticia, fácil reproducción, alta tolerancia a las condiciones de baja calidad del agua, su robustez y resistencia a las enfermedades, y buena aceptación por parte de los consumidores, se estima que la producción mundial de tilapia alcanzará los 7,5 millones de toneladas en el año 2030 (Lu *et al.*, 2022).

La tilapia roja (*Oreochromis sp.*), especie caracterizada principalmente por no poseer manchas negras, es el resultado de la hibridación interespecífica de especies dentro del género *Oreochromis*, específicamente entre *O. mossambicus*, y otras especies de tilapia como *O. niloticus*, *O. hornorum*, y *O. aureus* debido a su atractiva piel roja sin manchas negras, su sabor fresco y delicioso, su rápido crecimiento y bajo requerimiento de alimento, es altamente demandada lo que produce que esta especie tenga un valor de mercado elevado (Fang *et al.*, 2022).

La coloración de la tilapia roja es similar a otras especies como la percha y pardo rojo, lo que motivó a productores e investigadores a iniciar un programa intensivo de hibridación para obtener nuevas líneas, pero hay que tomar en cuenta que a diferencia de otras especies, el cultivo de la tilapia roja requiere cuidados técnicos importantes, como un ambiente con temperaturas entre 24 y 30°C, alimentación artificial, y protección especial en todas las etapas debido a su vulnerabilidad a la depredación como resultado de la falta de mimetismo natural (Camero-Escobar & Calderón-Calderón, 2018).

2.4 Producción mundial de tilapia

La tilapia es una de las especies acuícolas más importantes en términos de producción a nivel mundial. De acuerdo con los datos de la FAO hasta el año 2020, la producción mundial de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) alcanzó los 4,4 millones de toneladas de peso vivo, lo que representa el 9% de la producción mundial continental de las principales especies acuícolas, mientras que tilapias (*Oreochromis sp.*) obtuvo una producción de 1,1 millones de toneladas de peso vivo, lo que representa el 2,2% del porcentaje total en peces de aleta en la acuicultura continental (FAO, 2022). Estas cifras reflejan la importancia de la tilapia como fuente de alimento y generadora de empleo en muchas partes del mundo, así como el papel clave que juega en la seguridad alimentaria global. Con un crecimiento constante en la producción, la tilapia se ha convertido en una especie de pez cada vez más importante en la acuicultura, y se espera que continúe siendo una fuente de alimento esencial en el futuro.

China sigue siendo el principal productor de tilapia, con una cuota de producción del 26% del total, pero otros países como Brasil e Indonesia han experimentado un rápido crecimiento en la producción. La tilapia china es generalmente de bajo costo y se exporta principalmente al mercado de Estados Unidos en forma congelada. Sin embargo, la competencia en el sur de China, especialmente en la provincia de Hainan, está presionando a esta industria de bajo margen. Por otro lado, la potente industria acuícola de Brasil ha estado invirtiendo en la producción de tilapia y en 2019 aumentó la cosecha en 432.149 toneladas, un aumento del 8% (FAO, 2020).

La tilapia es una especie apreciada en la acuicultura por su fácil reproducción, rápida tasa de crecimiento, tolerancia a una amplia gama de condiciones ambientales y demanda en el

mercado internacional. Su cultivo se ha expandido a lo largo de Asia, América Latina, África y otras regiones del mundo, y se espera que la producción siga aumentando en el futuro.

2.5 Cultivo de tilapia

Después de la carpa, la tilapia es la especie de pez de agua dulce más significativa cultivada a nivel mundial., esta se encuentra presente en más de 130 países alrededor del mundo, de los cuales los países con mayor producción de tilapia son China, Indonesia, Egipto y Filipinas, siendo China el mayor productor a nivel mundial y, en el continente de América, Brasil y México son los mayores productores de tilapia, aunque en menor cantidad comparados con los productores líderes a nivel mundial (Paredes-Trujillo & Mendoza-Carranza, 2022).

En el siglo XXI, el cultivo de tilapia es muy relevante para proveer alimento a las poblaciones, por ende, su rápido incremento en comparación con otras especies de peces, así como por su rápida capacidad de adaptarse a las a diferentes condiciones ambientales de producción debido a que la tilapia tiene carne blanca fácil de filetear y con pocas espinas, un sabor suave y versatilidad en la cocción, debido a estos factores la tilapia se ha convertido en una de las especies de peces más comercializados a nivel internacional (Méndez-Martínez et al., 2018).

A pesar de grandes puntos positivos que tiene realizar el cultivo de tilapia, hay que tomar en cuenta que una de las principales limitaciones para el crecimiento del cultivo de tilapia es la falta de agua dulce y la necesidad de una buena calidad genética de la semilla, esto representa un desafío para encontrar alternativas de producción en aguas salobres, aunque algunas variedades de tilapia son eurihalinas, lo que significa que pueden tolerar y adaptarse a diferentes niveles de salinidad (Carranza & Aceituno, 2019).

2.6 Introducción de la tilapia en el Ecuador

En Ecuador, aunque no se ha determinado específicamente se cree que la tilapia fue introducida de la siguiente manera: *O. mossambicus* fue importada desde Colombia a Santo Domingo de los Tsáchilas en 1965, mientras que *O. niloticus* fue introducida por un agricultor privado de Brasil en 1974. Además, el híbrido rojo (*Oreochromis sp.*) fue

introducido a inicios de la década de los 80 para la acuicultura. Se ha mencionado que *Oreochromis sp.* esta especie de pez, se acento en el río Chone perteneciente a la provincia de Manabí, desde donde colonizo las estructuras de acuicultura tradicionales denominadas "chameras" y causó un impacto en la población de la especie nativa "chame" (*Dormitator latifrons*) que es una parte importante de la dieta local (Jácome *et al.*, 2019).

2.7 Cultivo de tilapia en Ecuador

El sector de la acuicultura en Ecuador ha experimentado una diversificación y aunque el camarón sigue siendo el producto principal, actualmente no es el único debido a que, en los últimos años, ha habido un aumento significativo en el cultivo de tilapia, impulsado por la aparición de enfermedades que afectaron la producción de camarón en el país (Alcívar *et al.*, 2020).

La Tilapia Roja es el segundo cultivo de mayor importancia económica en la acuicultura de Ecuador, y en los últimos años ha experimentado un crecimiento significativo a una tasa promedio anual del 7%. A pesar de que la tilapia producida en Ecuador se exporta a países de América del Norte y Europa, las ventas al mercado estadounidense son las más relevantes, ya que este país importa el tercer producto acuícola más importante después del camarón y el salmón del Atlántico (Arboleda *et al.*, 2021).

En 1999, la industria acuícola en Ecuador experimentó un crecimiento significativo después del colapso de la industria del camarón debido a la aparición del virus de la mancha blanca. Debido a esto, muchos productores han decidido centrarse en la producción de tilapia, alentados por la demanda del mercado interno y los atractivos precios de los filetes de tilapia en el mercado americano. Sin embargo, esta tendencia está disminuyendo con la recuperación de la industria del camarón y el aumento de los precios del camarón en el mercado mundial. Según las estadísticas de exportación de tilapia a Estados Unidos, Ecuador creció de 21.731 libras en 1993 a 27'315.395 libras en 2007, convirtiéndose en el tercer productor del mundo y el primero de América Latina. Desde entonces, la producción de tilapia ha ido disminuyendo gradualmente, alcanzando aproximadamente 1'835.184 libras en 2018 (Jácome *et al.*, 2019).

2.8 Biología de la especie

Esta especie de pez es muy valorada en la acuicultura debido a sus destacadas características biológicas, que incluyen su alta tasa de crecimiento, facilidad de reproducción, amplio rango alimenticio y habilidad para sobrevivir en densidades poblacionales elevadas, además de esto, la tilapia tiene una resistencia notable a condiciones adversas como bajos niveles de oxígeno, altos niveles de amonio, diversos contaminantes y altas cargas de parásitos, debido a estas cualidades, la tilapia es considerada una de las especies más populares y exitosas en la acuicultura (Paredes & Mendoza, 2022).

La crianza del híbrido de tilapia roja ofrece varias ventajas en comparación con otras especies, de las cuales las más destacadas son: alcanzan un alto porcentaje de masa muscular, proporcionan filetes grandes, tienen la característica de padecer de espinas intramusculares, poseen un rápido crecimiento, una buena capacidad de adaptarse a diferentes ambientes, una gran tolerancia a enfermedades, una excelente coloración de la carne y textura, y lo más importante es que tiene una buena aceptación en el mercado (Palacio & Rico, 2019).

En términos de biología, la tilapia roja presenta una clara diferenciación entre los machos y las hembras presentan diferencias morfológicas y fisiológicas evidentes. Además, son ovíparos y tienen una fecundación externa, es decir, los huevos son fertilizados por el macho fuera del cuerpo de la hembra. Los huevos eclosionan en aproximadamente 24 horas y los alevines permanecen cerca del sustrato hasta que alcanzan un tamaño que les permite nadar libremente.

2.8.1 Morfología externa

La especie se distingue por su color rojizo y su cuerpo robusto, que es comprimido de los lados, en algunos casos, los machos tienen cabezas más grandes que las hembras y presentan una boca ancha y protractil con labios gruesos y dientes cónicos o incluso incisivos, además, tienen escamas cicloideas y las partes anteriores de las aletas dorsal, anal y caudal constan de espinas y radios (Bernstein & Maridueña, 2022). La línea lateral se divide en dos segmentos: el primero se extiende desde el opérculo hasta los últimos radios de la aleta dorsal, mientras que el segundo se encuentra por debajo de la línea lateral superior y se extiende

hasta la terminación de la aleta caudal. Cada lado de la cabeza presenta un único orificio nasal (Toral, 2022).

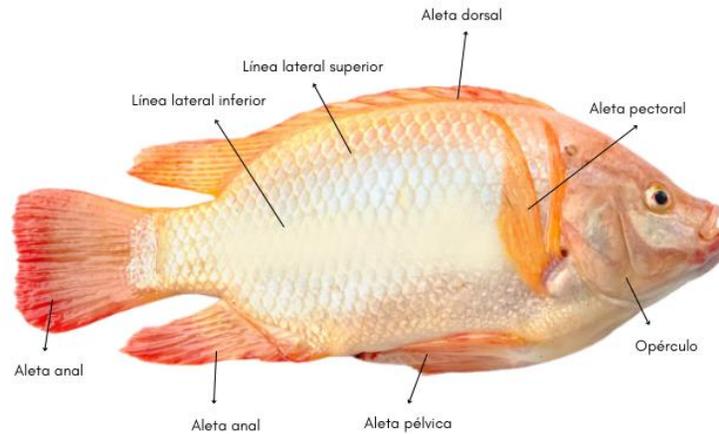


Figure 1 Morfología externa de la tilapia.

Fuente: Toral, 2022

Elaboración: Las autoras

2.8.2 Hábitat de la tilapia.

La tilapia es una especie de pez que vive en muchos ambientes acuáticos como ríos, arroyos, lagos, estanques y pantanos. A pesar de que es oriunda de África, ha sido introducida en muchas regiones del mundo como Sudamérica, Centroamérica, Asia y algunas partes de Norteamérica (Avirama & Garcés, 2021).

Aunque es una especie que vive en agua dulce, tiene la capacidad de desarrollarse y adaptarse exitosamente en aguas salobres, tolerando cantidades que van desde 0 hasta 30 ppt. Asimismo, puede soportar cambios drásticos de temperatura que fluctúan entre los 8 y 41°C. Su hábitat original se encuentra en cuencas y ríos del norte de África y Asia Occidental, donde las aguas se caracterizan por tener una alta cantidad de materia orgánica, turbidez y presencia de gran cantidad de algas y plantas acuáticas (Martínez & Valle, 2021).

2.8.3 Dimorfismo sexual

Es común encontrar diferencias en el tamaño entre machos y hembras en las especies de peces, aunque se han realizado estudios sobre estas diferencias de crecimiento sexual en diversas especies, aún no se comprenden completamente los mecanismos reguladores que son comunes a todas las especies con dimorfismo sexual (Luo *et al.*, 2022). Existe una marcada diferencia en la apariencia entre machos y hembras, lo que se conoce como dimorfismo sexual, y se relaciona con el crecimiento y el peso que alcanzan durante un período de cultivo determinado, en este sentido, los machos pueden llegar a pesar hasta tres veces más que las hembras (Vargas, 2019).

2.8.4 Características sexuales en la especie

Las características sexuales primarias consisten en la cantidad de orificios ubicados alrededor del ano, lo que permite diferenciar entre macho y hembra, en el caso de la tilapia macho, se pueden identificar dos orificios: el ano y los orificios genitales, en contraste, en la tilapia hembra se pueden observar tres orificios: el ano, el orificio uretral y el orificio genital (Widyawati *et al.*, 2021).



Figure 2 Características sexuales entre hembra y macho.

Fuente: Widyawati et al., 2021

2.8.5 Reproducción.

Según Ganoza *et al.*, (2021) los machos de tilapia alcanzan la madurez sexual a los 3 o 4 meses, mientras que las hembras lo hacen entre 3 o 5 meses, la cantidad de veces que se

reproducen al año varía dependiendo de las condiciones ambientales y puede ser de 5 a 8 veces al año.

La tilapia roja se reproduce muy fácilmente en cautiverio y es uno de los peces más productivos en términos de tasa de reproducción. En condiciones controladas, esta especie puede reproducirse todo el año, las hembras pueden producir hasta 500 huevos por desove.

La reproducción en esta especie se distingue por el esmerado cuidado que brinda la madre, desde la fertilización de los huevos, durante las primeras semanas de vida de las crías, los machos se dedican a construir los nidos, mientras que las hembras se encargan de incubar los huevos una vez que han sido fertilizados por el macho, llevándolos en su boca. hasta que las crías estén lo suficientemente desarrolladas para inflar su vesícula natatoria (Serrano & Zhirzhan, 2022).



Figure 3. *Incubación de huevos.*

Fuente: Serrano & Zhirzhan, 2022.

2.8.6 Reversión sexual

La reversión sexual en la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) es un proceso de manipulación hormonal que se utiliza en acuicultura para convertir genéticamente peces juveniles de sexo femenino en peces de sexo masculino

Históricamente y hasta la fecha, la adición del esteroide sintético 17α -metiltestosterona (17 MT) al alimento en las granjas comerciales ha sido una práctica habitual para obtener crías de tilapia solo de machos. Esta alimentación enriquecida con 17 MT se administra a las crías en sus etapas iniciales (a partir de los 14 días de haber eclosionado) y se mantiene durante un

periodo continuo de 21 a 28 días (Karaket *et al.*, 2023). Este proceso permite el cultivo de tilapias de tamaño y calidad uniformes, ya que los machos suelen crecer más rápido y ser más robustos que las hembras.

2.9 Requerimientos medioambientales

Según Mendoza, (2011) la tilapia roja es popular entre los peces de agua dulce, que a menudo se cría en entornos acuícolas para la producción de alimentos. Como todos los animales acuáticos, la tilapia roja tiene requisitos ambientales específicos que deben cumplirse para garantizar su salud y crecimiento. Algunos requisitos ambientales clave para la tilapia roja incluyen:

2.10 Calidad del agua

Con el objetivo de asegurar un adecuado cuidado y crecimiento de las tilapias, así como una producción satisfactoria, se emplea el método de cultivo en estanques, este tipo de cultivo, el factor más relevante es la calidad del agua, ya que ésta representa el hábitat de las tilapias por lo que es crucial mantener los parámetros del agua dentro del rango óptimo para asegurar la vida saludable de las tilapias en cada etapa de su crecimiento (Mendoza, 2011).

2.10.1 Temperatura

Según Borja *et al.*, (2006) menciona que las tilapias son una especie de pez de origen tropical, por lo que su crecimiento óptimo se logra en un rango de temperatura entre 24 °C y 30 °C, cuando la temperatura es más alta o más baja, tanto la reproducción como el crecimiento pueden disminuir o incluso detenerse. Es importante evitar cambios bruscos en la temperatura, ya que variaciones diarias de más de 5 °C pueden ser perjudiciales.

2.10.2 Oxígeno disuelto

Para asegurar el bienestar y óptimo crecimiento de la tilapia roja, es necesario mantener niveles adecuados de oxígeno disuelto en el agua, se recomienda mantener los niveles de oxígeno en un mínimo de 5 ppm (Bautista & Ruiz, 2011).

2.10.3 pH

El pH es un sistema que permite balancear sustancias ácidas, básicas y neutras, este método se utiliza para clasificar las sustancias en función de su grado de acidez o basicidad, por ejemplo, en la escala de pH, las sustancias ácidas se ubican entre 1 y 6, las neutras tienen un valor de 7, mientras que las sustancias básicas o alcalinas se encuentran en el rango de 8 a 14 (Moreno, 2021). En el cultivo de tilapia, se requiere tener en cuenta el nivel de alcalinidad y acidez del agua, por lo que se recomienda un rango de pH entre 6.5 y 8.5 (Mendoza, 2011).

2.11 Alimentación

La tilapia roja es un pez omnívoro que se alimenta de una amplia variedad de alimentos, incluyendo plantas acuáticas, algas, invertebrados y otros peces. En la naturaleza, se encuentra en ríos, lagos y estanques poco profundos, donde pueden encontrar refugio en la vegetación acuática y en estructuras artificiales como rocas y troncos sumergidos (Martínez, 2006).

La tilapia es una de las especies que se encuentra en los primeros eslabones de la cadena alimentaria debido a su dieta compuesta por algas, material en descomposición y plancton, estas se adaptan fácilmente a la alimentación con pellets balanceados, cuando se ingieren alimentos. La tilapia tiene un número variable de microbranquiespinas, que van desde catorce hasta veintisiete, lo que les permite dominar la dieta de fitoplancton y cianobacterias (Colquechambi, 2022).

La alimentación de los peces reproductores juega un papel importante en la calidad de los huevos y larvas. En el caso de la tilapia, que pone huevos aproximadamente una vez al mes y los deposita en la boca, los niveles de nutrientes afectan la fertilidad, el número de huevos por nacimiento, la calidad de los huevos y la salud de las crías (Colquechambi, 2022).

2.12 Crecimiento

El desarrollo de un individuo es un proceso complicado que no se puede atribuir únicamente a las diferencias genéticas presentes en una población, a menudo se cree que la regulación epigenética es un factor crucial en la determinación de cómo se manifiesta un rasgo, como el

crecimiento, pero su impacto en este proceso puede variar significativamente según la especie y el entorno (Podgorniak et al., 2019).

2.13 Plaguicidas

Los plaguicidas son compuestos químicos empleados para eliminar plagas en los cultivos agrícolas. En la agricultura convencional, son fundamentales para lograr y mantener altos niveles de producción y rentabilidad. Sin embargo, su uso también puede tener efectos negativos en la fauna y la flora (Díaz & Betancourt, 2018). Los productos químicos utilizados para controlar plagas se clasifican de acuerdo a su objetivo específico: los fungicidas se utilizan para combatir hongos, los herbicidas para combatir plantas no deseadas, los insecticidas para controlar insectos, etc.

2.14 Contaminantes en el agua por plaguicidas

La contaminación del agua en las zonas agrícolas es un problema evidente debido a diversos factores. El derrame de residuos líquidos de los envases de productos químicos, la aplicación de desinfectantes en el suelo, el uso de pesticidas y fungicidas en las semillas para prevenir plagas y enfermedades, y el uso de canales de riego están entre las principales causas de contaminación. Los pesticidas organoclorados se encuentran presentes en el agua de una ciénaga utilizada tanto para agricultura como para acuicultura. Esto confirma que la contaminación del agua en las zonas agrícolas es un problema real que debe ser abordado (Castillo *et al.*, 2020).

2.15 Clasificación de los plaguicidas

2.15.1 Según su composición química

La forma más utilizada para clasificar los plaguicidas se basa en su composición química y los ingredientes activos que los componen. Esta clasificación nos da información sobre la eficacia, las propiedades físicas y químicas de cada plaguicida, lo cual es valioso para determinar cómo se deben aplicar, las precauciones necesarias y las tasas de aplicación. Los plaguicidas se clasifican en diferentes grupos principales según su composición química: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretrina y piretroides (Kaur *et al.*, 2019).

2.15.2 Clasificación de plaguicidas basada en el organismo o plaga que eliminan

Los pesticidas son sustancias químicas utilizadas para controlar plagas en diferentes campos, como la agricultura, la jardinería y la salud pública. Estos pesticidas se clasifican según el tipo de plaga que buscan controlar, como los insecticidas para matar insectos, los fungicidas para combatir hongos, los acaricidas para eliminar ácaros y garrapatas, los algicidas para suprimir las algas, los herbicidas para controlar las plantas no deseadas, los antialimentadores para evitar que las plagas se alimenten, los avicidas para matar pájaros y los bactericidas para matar o inhibir las bacterias (Nayak & Solanki, 2021).

2.16 Herbicida glifosato

En 1970, John Franz, un químico de Monsanto, descubrió la capacidad que tiene el glifosato de exterminar plantas. Años después, creó el primer herbicida basado en este compuesto, llamado *Roundup*. Actualmente, hay muchos productos similares comercializados bajo diferentes marcas en más de 100 países (Soares *et al.*, 2021).

El glifosato es un herbicida soluble en el agua, utilizado a nivel mundial, que deriva del aminoácido glicina e impide la asimilación de los aminoácidos aromáticos esenciales, el cual se encarga de erradicar todo tipo de plantas perceptibles. Su uso generó un gran aumento al insertar cultivos modificados a nivel genético resistentes a dicho herbicida (González & Fuentes, 2022).

2.17 Uso del glifosato

El glifosato es ampliamente utilizado en campos agrícolas y jardines debido a su eficacia en matar malezas, su rápida absorción por las plantas y la percepción de que son de baja toxicidad y generan poca resistencia a los herbicidas. Sin embargo, debido al uso extensivo y la acumulación de estas sustancias químicas presentes en el entorno y en los alimentos, se están planteando preocupaciones importantes sobre los efectos perjudiciales de glifosato en la salud humana, vegetal, animal, en la calidad del suelo y agua (Rivas *et al.*, 2022).

Está demostrado por la literatura que el ácido aminometilfosfónico (AMPA) es el producto principal del glifosato y es comúnmente encontrado en sedimentos, agua superficial y

subterránea. Además, varios estudios sobre su toxicidad *in vitro* han demostrado que AMPA tiene un impacto negativo en los glóbulos rojos humanos y puede causar anomalías cromosómicas en los peces (Singh *et al.*, 2020).

2.18 Efecto del glifosato en el ambiente

El glifosato desencadena una serie de efectos que perjudican al ambiente ya sea en suelo como en el agua, además de retenerse en el suelo por las partículas, este desemboca en aguas superficiales a través de las escorrentías, lugar donde el agua se encuentra con los sedimentos. Estudios han mostrado que el glifosato es un compuesto cancerígeno y puede causar daño en los órganos al bloquear la acetilcolinesterasa y aumentar el estrés oxidativo en las especies que no son mamíferos (Singh *et al.*, 2020).

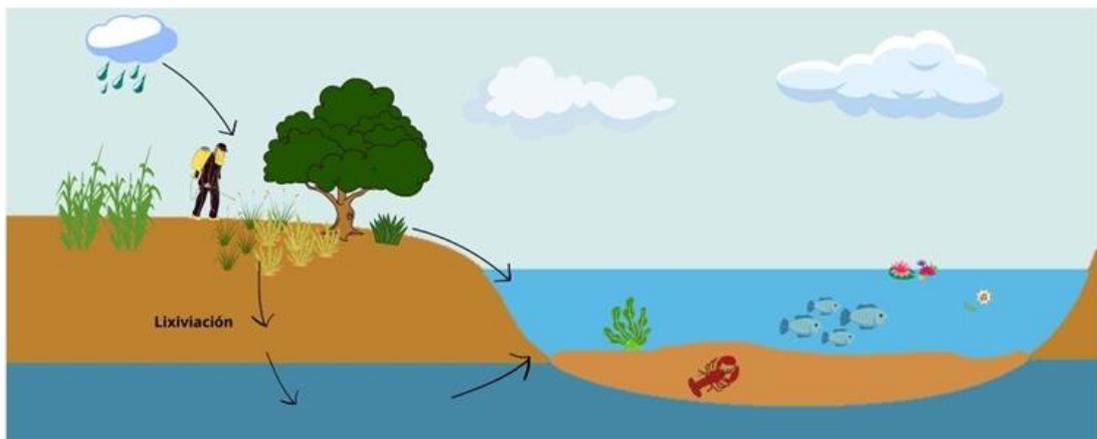


Figure 4 Contaminación del ambiente por aplicación de glifosato.

Elaboración: Las autoras

2.18.1 En el suelo

A pesar de que el glifosato (GLY) tiene una fuerte unión con el suelo, la cantidad que filtra o escurre hacia las aguas superficiales o subterráneas es baja. Sin embargo, cuando se aplica en forma de aerosol, el GLY puede desplazarse desde el suelo y llegar a los ecosistemas acuáticos. El mayor riesgo de transporte de GLY fuera del sitio se presenta cuando se aplica en altura, durante la lluvia y cuando no hay una ruta de flujo que evite el transporte de GLY a través del suelo desde las cuencas (Tresnakova *et al.*, 2021).

2.18.2 En el agua

La aplicación repetida de pesticidas afecta significativamente la calidad del agua y la biología de las comunidades acuáticas, causando cambios en los tejidos, fisiología, comportamiento de los organismos acuáticos, y también puede afectar su capacidad de reproducción. Además, el estrés ambiental causado por estos productos químicos puede causar la pérdida de hábitats y la biodiversidad de agua dulce. Sin embargo, el uso de pesticidas tiene efectos negativos en el medio ambiente, a pesar de su ventaja en el control de plagas, enfermedades y hongos en el campo agrícola (Tresnakova *et al.*, 2021).

2.18.3 Efectos sobre los ecosistemas acuáticos

En estudios pasados utilizaron una metodología específica para establecer la relación entre la estructura química de los pesticidas y su toxicidad en la trucha arco iris, a través de un análisis denominado QSAR. El estudio se basó en una gran cantidad de pesticidas obtenidos de una base de datos específica de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Los resultados obtenidos mediante experimentos computacionales revelaron que los compuestos que contenían cloro, flúor, azufre y fragmentos aromáticos eran los principales responsables del aumento en la toxicidad observada (Choudri *et al.*, 2018).

Dada la característica de alta solubilidad en agua y su uso recurrente, no es sorprendente que el glifosato tenga un impacto en ambientes como el suelo, arroyos y aguas subterráneas. La presencia de glifosato en el agua, que es esencial en la cadena alimentaria de los cultivos de peces dulceacuícolas, ha generado preocupaciones sobre su posible contaminación y su impacto en la salud.

La utilización de plaguicidas puede tener efectos negativos en el ambiente acuático debido a diversas causas, como la deriva durante el rociado, el escurrimiento y la lixiviación. La transferencia de plaguicidas desde las áreas agrícolas puede ser perjudicial para los ecosistemas tanto terrestres como acuáticos. Los plaguicidas pueden afectar a los peces de manera directa, siendo los peces más pequeños los más vulnerables. También hay efectos tóxicos indirectos en los peces, debido a la reducción de las fuentes de alimento, cambios en los hábitos alimentarios y deterioro de la calidad del hábitat acuático. Algunos plaguicidas,

como los herbicidas, pueden disminuir la cantidad de productores primarios y, en última instancia, reducir la producción primaria y secundaria (Hassaan & El Nemr, 2020).

2.19 Daños en los organismos

El uso frecuente e inadecuado del glifosato tiene consecuencias negativas en el ambiente, como la contaminación de fuentes de agua, la reducción de la fertilidad del suelo y la alteración de la biodiversidad. Además, sus residuos pueden ser tóxicos para diferentes tipos de organismos, incluyendo artrópodos, gusanos, peces, anfibios, reptiles, mamíferos, plantas y microorganismos. También se ha demostrado que el glifosato puede tener efectos negativos en la citotoxicidad, genotoxicidad, teratogénesis y endocrinas en ciertos vertebrados (López-Chavéz *et al.*, 2021).

2.19.1 Efecto del glifosato en la salud de los peces

El uso de herbicidas puede tener un impacto negativo en los organismos acuáticos de varias maneras, puede darse mediante la absorción directa a través de la respiración y la ingestión. Los peces podrían estar expuestos a estos contaminantes por medio de su dieta, alimentándose de presas que han sido previamente contaminadas, o consumiendo agua contaminada con pesticidas. Esto puede resultar como envenenamiento secundario teniendo consecuencias graves para la salud de estos organismos (Shefali *et al.*, 2021).

En el presente ensayo se demuestra que la presencia de glifosato en el herbicida *Roundup* provocó una disminución en la tasa de crecimiento de los peces *Leporinus obtusidens*. Esta disminución en el crecimiento se atribuye a la necesidad de los peces de emplear energía para eliminar el compuesto tóxico, lo que alteró su metabolismo de carbohidratos y proteínas, disminuyendo así la cantidad de energía disponible para el crecimiento a partir del alimento. Además, se observó una disminución en la actividad de la enzima AChE en el cerebro de los peces expuestos al *Roundup*, lo que podría estar relacionado con la disminución en el crecimiento. A pesar de esta reducción en el crecimiento, no se detectaron cambios en la capacidad de natación o locomoción de los peces, posiblemente debido a su adaptación a la exposición prolongada al herbicida (Salbego *et al.*, 2010)

En este estudio, se expusieron un total de 135 carpas comunes con un peso promedio de 7 ± 0.8 g a concentraciones de 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 y 200 mL.L-1 de glifosato (15 peces en cada tratamiento, con triplicados) durante 96 horas en acuarios de 98 L de volumen. Se calcularon las LC10, LC20, LC30, LC40, LC50, LC60, LC70, LC80, LC90 y LC95 de glifosato a las 24, 48, 72 y 96 horas después de agregarlo utilizando la prueba probit. Se observó mortalidad en todos los tratamientos expuestos a concentraciones superiores a 50 mL.L-1 después de 96 horas. Los resultados mostraron que la LC50 de 96 horas de glifosato para la carpa común fue de 92.71 mL.L-1. Los peces expuestos a diferentes concentraciones de glifosato mostraron signos clínicos como aumento en la secreción de moco, oscurecimiento de la piel y la muerte con la boca abierta (Forouhar *et al.*, 2018).

Los resultados de este estudio indican una evaluación del efecto tóxico del glifosato en concentraciones subletales (1, 17.5 y 35 mg L-1) en la especie de pez *Cnesterodon decemmaculatus*. El periodo de evaluación de este experimento fue de 96 horas en un entorno de laboratorio. Un hallazgo notable es que todos los peces sobrevivieron a lo largo del estudio, incluso cuando se expusieron a la concentración más alta de glifosato probada (35 mg L-1). Este resultado sugiere que el glifosato no tuvo un impacto letal significativo en esta especie de pez, lo que indica una baja toxicidad letal para el glifosato en las condiciones del experimento (Menéndez-Helman *et al.*, 2012).

El *Danio rerio*, conocido como pez cebra, es un pequeño pez de agua dulce perteneciente a la clase de los teleósteos que ha sido tradicionalmente utilizado en investigaciones biomédicas y en la acuicultura. Muchos estudios describen los efectos dañinos del glifosato en el *Danio rerio* y se ha llegado a determinar que en concentraciones de $8,5 \mu\text{g ai mL}^{-1}$ de Roundup® Ultramax (RU) herbicida sistémico cuyo componente es el Glifosato-monoamonio, puede ser tóxico para el desarrollo del pez cebra, debido a que tiene efectos negativos en la eclosión, la frecuencia cardíaca y causa malformaciones e incrementa la tasa de mortalidad (Lanzarin *et al.*, 2019).

En ambientes acuáticos, diversas sustancias son ingresadas al medio como pesticidas, los cuales pueden generar estrés oxidativo en los peces, así lo mencionan Zheng *et al.*, (2020) al haber comprobado mediante una investigación los efectos tóxicos del Gly a concentraciones

de 0, 0.2, 0.8, 4 y 16 mg/L en juveniles de tilapia, siendo sometidos con este herbicida a una exposición a largo plazo de 80 días, lo que redujo la capacidad de defensa contra el estrés oxidativo, alteró el metabolismo hepático, causó inflamación e inhibió la respuesta inmunológica. Cabe destacar que uno de los efectos más perjudiciales de Gly es causar estrés oxidativo, lo que puede debilitar el sistema de defensa contra los radicales libres, en los peces, los indicadores más importantes de su sistema de defensa antioxidantes incluyen CAT, T-AOC, GSH y SOD, que pueden funcionar como alertas tempranas del estrés oxidativo inducido por factores externos.

En este bioensayo se analizaron los efectos que pueden llegar a ocasionar el glifosato de grado técnico en un lapso de siete semanas en la tilapia roja cruzada (*O. niloticus* × *O. mossambicus*) sometiéndose a concentraciones de 0 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L y 150 mg/L, los resultados indicaron que el parámetro más sensible a la toxicidad fue el índice de peso corporal, que se vio reducido cuando se utilizó una concentración de 25 mg/L de glifosato, además se encontraron correlaciones negativas entre la concentración de glifosato y los parámetros de toxicidad, como la tasa específica de crecimiento, el índice hepatosomático y el índice gonadosomático, concluyendo que la condición de los peces y la tasa de conversión de alimento no se vieron afectadas por la concentración más alta de glifosato probada (150 mg/L) (Muhammad *et al.*, 2021).

En el siguiente bioensayo evaluado en bagre africano (*Clarias gariepinus*), en el cual 150 alevines fueron distribuidos en diferentes tratamientos con concentraciones subletales de 0,30 mg/l, 0,50 mg/l, 0,70 mg/l y 1,40 mg/l de Roundup®, las medidas de peso (g) y longitud (cm) se registraron cada 15 días para monitorear el crecimiento. Los resultados expuestos durante el proceso de 60 días demuestran que hubo una diferencia significativa en el crecimiento entre los tratamientos, se determinó que los organismos que presentaron un peor crecimiento fueron los que estaba a una concentración de 1,40 mg/l (Uchenna *et al.*, 2022).

La finalidad de este estudio fue determinar el efecto de la exposición directa y prolongada al glifosato en la salud de la trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*. Treinta y seis ejemplares fueron sometidos a una exposición diaria durante 40 semanas a una concentración de glifosato similar a la presente en el ambiente (1 µg L), utilizando dos formulaciones de GBH (Roundup Innovert® y Viaglif Jardin®), y los resultados fueron comparados con un grupo

control sin exposición (n = 12). Estos hallazgos indican que una exposición de 10 meses de la trucha arco iris a una concentración de 1 µg/L mostró tendencias hacia niveles más bajos de expresión del factor de necrosis tumoral-α (entre el 38% y el 66%) un mes después del desove en todas las condiciones contaminadas, pero no alcanzaron significancia estadística. Los indicadores de exposición, es decir, las actividades de la acetilcolinesterasa y anhidrasa carbónica, no fueron afectados y ninguno de los contaminantes químicos influyó en el estrés oxidativo o en los parámetros metabólicos medidos (Du-Carrée *et al.*, 2021).

2.19.2 Efectos en la sangre

La exposición al glifosato puede afectar la composición de la sangre de la tilapia de varias maneras. Algunos estudios han encontrado que la exposición al glifosato puede disminuir la concentración de eritrocitos y aumentar la concentración de linfocitos en la sangre de los peces. También se ha observado que puede aumentar la concentración de marcadores hepáticos en la sangre, lo que puede indicar daño en el hígado.

En un estudio realizado en 2018 demuestra los efectos de herbicida Roundup sobre juveniles de Durmiente de Amur *Perccotus glenii* Dybowski cuya concentración subletal fue de 2 µg/L, además este procedimiento también se le añadió un aumento de temperatura de 8 °C/h, el estudio demostró que el incremento de temperatura junto con la dosis de herbicida Roundup provoca una reducción en el tamaño de las células sanguíneas y un incremento de la proporción de células anormales (Zabotkina *et al.*, 2018).

Por el contrario la especie perca trepadora, científicamente conocida como *Anabas testudineuses* fue expuesta a 3 concentraciones subletales diferentes de GLY (T1: 2,6 ppm; T2: 3,9 ppm y T3: 7,8 ppm) en un periodo de 45 días, con 12 organismo en cada tratamiento, finalizado el tiempo del bioensayo, se obtuvo que todos los tratamientos tuvieron una disminución de los glóbulos rojos y contenido de hemoglobina como respuesta a la exposición del herbicida, por lo cual este trabajo relevó que el glifosato ocasiona daños en el parámetro hematológico de la perca trepadora (Mohapatra *et al.*, 2021).

Roundup Transorb® (RDT) es un herbicida a base de glifosato comúnmente utilizado en prácticas agrícolas en todo el mundo, los efectos de este producto fueron analizados en las

especies *Odontesthes humensis*, pez perteneciente al género *Odontesthes*, nativa de Brasil que habita en agua cálidas. Para evaluar los efectos del RDT a corto plazo, los organismos fueron sometidos a dos concentraciones del producto (2,07 y 3,68 mg L⁻¹) en un lapso de tiempo de 24 horas, para la apoptosis en los eritrocitos se cuantifican mediante citometría de flujo, y al culminar el ensayo se obtuvo que los eritrocitos aumentaron en ambos tratamientos (Martins *et al.*, 2021).

En esta investigación, se evaluó el potencial tóxico del glifosato en peces *Carassius auratus* L. expuestos a dosis de 2,5 mg/L y 5 mg/L durante 120 horas en un entorno de laboratorio. Los hallazgos obtenidos demostraron que la exposición al glifosato a concentraciones de 2,5 mg/L y 5 mg/L resultó en una reducción ligera en la media de glóbulos rojos en comparación con la variante control, el número de eritrocitos disminuyó de $1,93 \pm 0,04$ mL/mm³ en el grupo control a $1,89 \pm 0,05$ mL/mm³ en la muestra con 2,5 mg de glyphosate/L de agua y a $1,72 \pm 0,08$ mL/mm³ en la variante tratada con 5 mg de glyphosate/L, en conclusión en comparación con el grupo control, los valores de hematocrito y hemoglobina, así como el número de eritrocitos, disminuyen ligeramente, lo que indica la presencia de una anemia moderada (Dumitru *et al.*, 2019).

2.20 Eritrocitos

Los eritrocitos, también denominados como glóbulos rojos, son las células sanguíneas más comunes en los peces óseos y su cantidad puede variar entre 0.5 y 1.5×10^6 /mm³ y 3.0 y 4.2×10^6 /mm³, dependiendo de la especie y su actividad biológica. Se caracterizan por tener forma de discos ovalados, aplanados y biconvexos, y contienen varios orgánulos en su citoplasma, además de un núcleo (Stosik *et al.*, 2020).

La abundancia de eritrocitos en los peces y los múltiples factores que pueden incidir en su recuento. Los eritrocitos son las células sanguíneas más comunes en los peces, representando típicamente entre el 98% y el 99% de todas las células sanguíneas en estos animales.

Además, se debe considerar que el recuento de eritrocitos es un parámetro de diagnóstico clave en la salud de los peces y que puede variar debido a varios factores: condiciones ambientales como la temperatura del agua, pueden tener un impacto en este recuento. También, factores

biológicos como la actividad de los peces, su edad, género, estado nutricional y estado reproductivo pueden influir en el número de eritrocitos. Es importante destacar que este recuento puede variar incluso entre poblaciones de la misma especie de peces. Según Witeska *et al.*, (2022); detalla que el rango típico del recuento de eritrocitos en peces, varía desde 0.5 a $1.5 \times 10^6 /\mu\text{L}$ en especies menos activas hasta 3.0 a $4.2 \times 10^6 /\mu\text{L}$ en especies más activas.

La tilapia (*O. niloticus*) es una especie que se alimenta de plancton y es omnívora, sin embargo, su crecimiento se ve retrasado por los efectos nocivos ocasionado por el glifosato que perjudican a la población y estos se ven afectados al formarse los micronúcleos, que se caracterizan por cambios en los núcleos de los eritrocitos y para determinar los efectos tóxicos de los contaminantes en los animales expuestos, se han utilizado biomarcadores bioquímicos como la catalasa (CAT), la superóxido dismutasa (SOD), las glutatión-s-transferasas (GST), el glutatión reducido (GSH) y el malondialdehído (MDA), que mide el índice de peroxidación lipídica, además, los cambios histopatológicos pueden servir como biomarcadores de los efectos de la contaminación antropogénica en los organismos y pueden ser indicativos de la salud de los ecosistemas (Aribisala *et al.*, 2022).

2.20.1 Análisis hematológico

El examen hematológico es una forma común de evaluar la salud y el estado fisiológico de los peces, que implica medir recuentos de células sanguíneas y otros parámetros relacionados, así como la medición de índices bioquímicos en el plasma, este tipo de análisis se realiza rutinariamente para obtener información valiosa sobre la salud general de los peces, el éxito de la obtención de muestras de sangre y la precisión de los análisis hematológicos dependen del cuidado y mantenimiento adecuados de los peces, así como del nivel de estrés durante la extracción de la muestra sanguínea (Witeska *et al.*, 2022).

2.20.2 Recuento de eritrocitos

En los peces, los eritrocitos son las células sanguíneas más abundantes, representando normalmente entre el 98-99% del total de células sanguíneas en estos animales, de tal manera, es muy necesario realizar un recuento de eritrocitos (RBC) siendo este un parámetro de diagnóstico importante que puede verse afectado por diversos factores ambientales, como la

temperatura del agua, así como por factores biológicos como la actividad, edad, sexo, estado nutricional y reproductivo de los peces. Además, es posible que este recuento varíe entre diferentes poblaciones de una misma especie (Witeska *et al.*, 2022).

2.20.3 Alteraciones en eritrocitos

Ragab Farag & Alagawany, (2018) mencionan que la mayoría de los problemas o irregularidades en las células sanguíneas de los peces se han notado en aquellos que han estado expuestos a sustancias tóxicas, en particular, a herbicidas. Estas sustancias tienen la capacidad de afectar a los glóbulos rojos de dos maneras distintas: ocasionando daño directo a la estructura interna, conocida como citoesqueleto, o a través del funcionamiento interno de los mismos.

En este estudio, se utilizaron peces *Labeo rohita*, que fueron expuestos a diferentes dosis de butaclor, un herbicida cloroacetanilida, incluyendo concentraciones de 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg/L, además del grupo de control a 0 mg/L. Las concentraciones más altas (0.75 y 1.00 mg/L) causaron signos clínicos como respiración rápida y natación errática. Los valores hematológicos mostraron reducciones significativas en eritrocitos, hemoglobina, hematocrito y linfocitos, junto con un aumento en los leucocitos. Se observaron anomalías morfológicas y nucleares en los eritrocitos, como células en forma de pera y micronúcleos. Estos hallazgos indican efectos clínicos, hematológicos y genotóxicos del butaclor en los peces, sugiriendo un riesgo potencial para otras especies expuestas en el medio ambiente (Ghaffar *et al.*, 2015).

El propósito de este estudio fue investigar las alteraciones citoplasmáticas en los eritrocitos de sábalo (*Prochilodus lineatus*) expuestos a un ensayo a largo plazo con el glifosato. Para la parte experimental se utilizaron 8 ejemplares jóvenes de sábalo, los cuales se dividieron aleatoriamente en dos grupos en función de la adición de herbicida: un grupo control sin adición y otro tratado con 0,1 µg/l de glifosato, el ensayo duró 70 días y para examinar las alteraciones, se extrajo sangre periférica a través de una punción en la vena caudal, ciertas anomalías detectadas incluyeron la presencia de vacuolas citoplasmáticas, dacriocitosis y microcitosis, Los resultados indican una respuesta patológica en el sistema sanguíneo ante una exposición crónica a una dosis de 0,1 µg/l de glifosato, además, es importante mencionar

que los eritrocitos de los teleósteos son excelentes indicadores de citotoxicidad y pueden ser utilizados para el monitoreo ambiental (Caramello *et al.*, 2018).

En este estudio, se evaluaron los efectos de los herbicidas pendimetalina y etofumesato en los eritrocitos de carpas comunes. Se administraron dos concentraciones diferentes de cada herbicida (2.5 y 25 $\mu\text{g/l}$ de pendimetalina, y 0.11 y 1.1 mg/l para etofumesato) durante un período de 7 días. Después de 3 días, se observó un aumento significativo en el porcentaje de núcleos deformados en peces expuestos a la combinación de ambos herbicidas en las concentraciones más altas, además de deformidades celulares y hemólisis en el grupo expuesto a la concentración más baja de pendimetalina. A los 7 días, los peces expuestos a la concentración más baja de pendimetalina mostraron un aumento en células deformadas (Bojarski *et al.*, 2018). Los efectos se relacionan más con el tiempo de exposición que con la concentración, indicando que concentraciones bajas de no causaron cambios morfológicos graves y persistentes en los eritrocitos de carpas comunes.

En un estudio sobre los eritrocitos de peces carpa cruciana (*Carassius carassius*) en un lago de agua dulce contaminado, se encontraron alteraciones morfológicas en estas células sanguíneas, como micronúcleos, yemas nucleares y núcleos deformados. Estos cambios indican la sensibilidad de los eritrocitos a la contaminación ambiental y su capacidad para servir como bioindicadores tempranos de toxicidad en el agua. Se utilizó la microscopía óptica digital (DLM) junto con análisis de imágenes para evaluar los daños morfológicos, lo que sugiere que estas técnicas son herramientas útiles en toxicología ambiental. Estos hallazgos respaldan la eficacia de los eritrocitos como biomarcadores de exposición y la utilidad de la DLM en la detección temprana de problemas ambientales (Sula *et al.*, 2019).

El estudio investiga los efectos genotóxicos de la cipermetrina, un insecticida piretroide comercial, sobre los eritrocitos de *Catla catla* expuestos repetidamente a dos concentraciones ambientalmente relevantes. Los peces fueron sometidos a concentraciones subletales de cipermetrina durante un período de 45 días. Los hallazgos revelaron un aumento en el daño del ADN, la formación de micronúcleos y otras anomalías en los eritrocitos en función de la dosis de cipermetrina de CL_{50} (0,12 $\mu\text{g/L}$ y 0,41 $\mu\text{g/L}$). Las anomalías incluían cambios nucleares, como núcleos mutados o deformados, y cambios citoplasmáticos, como células vacuoladas o equinocitos. Las evidencias resaltan la potencial genotoxicidad de la

cipermetrina en bajas concentraciones en el medio ambiente, así como sus efectos potencialmente dañinos en los organismos acuáticos, que no eran el objetivo previsto de la exposición (Sharma & Jindal, 2022).

CAPÍTULO III:

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales y Equipos

Materiales:

- Gavetas de 40 litros
- Piedras difusoras
- Mangueras
- Balanceado
- Test colorimétrico de amonio
- Gramera
- Cinta métrica
- Micropipetas
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Vaso Coplin

Insumos:

- Solución salina 0,9%
- Tubos de EDTA (0,5)
- Tubos de Eppendorf
- Jeringas de 3 ml
- Anestésico Natural
- Metanol
- Alcohol industrial
- Puntas de micropipetas
- Tinción de Giemsa

Equipos:

- Microscopio
- Cámara de Neubauer

3.2 Métodos

3.2.1 Ubicación del experimento

La parte experimental se llevó a cabo en el laboratorio de Maricultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Técnica de Machala. Se encuentra ubicada en el Km 5½ vía Machala-Pasaje; con las siguientes coordenadas: -3.291062, -79.914300



Figure 5. Área de estudio

Fuente: Google maps.

3.2.2 Obtención de los organismos

Los juveniles de tilapia fueron obtenidos en una granja acuícolas de tilapias ubicado en el cantón Balao perteneciente a la provincia de Guayas. De un grupo inicial de 100 juveniles con un peso promedio de 50 gr, se seleccionaron 27 individuos para el desarrollo del experimento. Cabe resaltar que los peces seleccionados no presentaban anomalías de padecer alguna enfermedad que modificara los resultados finales del experimento.

3.2.3 Aclimatación de los organismos

Los peces fueron sometidos a un proceso de aclimatación en un periodo de 3 semanas, distribuyendo 3 organismos por pecera en óptimas condiciones. En los tratamientos en cuestión, la temperatura se mantuvo en torno a los $26^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, lo que significa que oscilaba

25,5 °C y 27,5 °C en condiciones normales. Además, el pH del agua varió en el rango de 7,5 a 8,5 unidades durante el período de estudio.

3.2.4 Preparación de los tratamientos

Se tomaron 9 recipientes, los cuales fueron llenados a 35 L de agua; se colocó 2 aireadores de una entrada en cada recipiente. Distribuidos los peces en los recipientes, se determinó un tratamiento control, tratamiento (T1) con una concentración subletal de glifosato de 25 mg/L y un tratamiento (T2), cuya concentración subletal fue de 50 mg/L (Tabla 1). Cada tratamiento contó con dos replicas.

Tabla 1. Concentraciones de glifosato utilizadas en los grupos de cada tratamiento

N°	Identificación	Dosis subletal de herbicida (mg/L)	Dosis en ml
1	TC	0	0
2	T1	25 mg/L	1,82 ml
3	T2	50 mg/L	3,65 ml

El producto seleccionado para este experimento fue un herbicida comercial GLYFOSAD® 480 (GLY). Para administrar el herbicida en las peceras, se llevó a cabo un procedimiento meticuloso. En primer lugar, se extrajo un litro de agua de cada uno de los recipientes. Luego, se procedió a agregar la dosis específica de herbicida asignada en el litro de agua, dependiendo del tratamiento que se estaba aplicando. Una vez que el herbicida se incorporó cuidadosamente al litro de agua, se realizó la distribución homogénea de esta solución herbicida en todo el contenido del recipiente, garantizando que el herbicida se dispersara de manera uniforme en el entorno acuático de la pecera.

3.2.5 Experimento

La duración total del experimento se extendió a lo largo de 6 semanas. Durante este período, se implementaron tres grupos de tratamiento: uno de control y dos grupos de ensayo con concentraciones subletales de glifosato, cada unidad experimental con dos réplicas para garantizar la robustez de los resultados. Estas réplicas permitieron una evaluación más precisa de los efectos de los tratamientos a lo largo del tiempo.

En lo que respecta al manejo de las gavetas y la regulación de la concentración de glifosato en el entorno acuático, se siguió la metodología propuesta por Muhammad *et al.* en 2021. Este enfoque incluyó un reemplazo completo del agua de las peceras, es decir, un recambio del 100%, que se llevó a cabo cada dos días para reducir los niveles de amonio del medio y mantener los niveles de glifosato en las gavetas.

Los peces fueron alimentados 2 veces al día con el 2,4% de la biomasa, conforme los peces iban creciendo la dosis se reajustaba de acuerdo a la biomasa de los tratamientos.

Para la evaluación del crecimiento se registraban los datos de peso y talla semanalmente y, en cuanto a la supervivencia se examinaba el número de organismos vivos por semana.

3.2.6 Extracción de muestras de sangres para análisis hematológicos

Al completar las 6 semanas del experimento, se procedió a la extracción de muestras de sangre de los organismos para su posterior análisis. Cabe destacar que antes de llevar a cabo la extracción, los peces fueron anestesiados de manera adecuada. La obtención de la sangre se llevó a cabo a través de la punción de la vena caudal utilizando jeringas de 3 ml previamente esterilizadas. Una vez obtenida la muestra, esta se transfirió cuidadosamente a un tubo de recolección de sangre que contenía EDTA (0,5) para su preservación.

3.2.7 Conteo de eritrocitos

Para realizar el conteo de eritrocitos, se procedió de la siguiente manera: Inicialmente, se obtuvieron las muestras de sangre de tres peces por tratamiento, las cuales posteriormente se diluyeron utilizando solución salina al 0,9%. Esta dilución se llevó a cabo en una relación de 1:200, es decir; se mezclaron 5 μ l de sangre con 995 μ l de solución salina. Una vez preparada la dilución de la muestra, se depositaron en la cámara de Neubauer. El conteo de eritrocitos se realizó mediante la observación microscópica utilizando un lente de 40x de aumento.

Durante el proceso de conteo, se tomaron en cuenta los cuadrantes internos H1, H2, H3, H4 y H5 de la cámara de Neubauer para garantizar una medición precisa y representativa de los eritrocitos presentes en la muestra de sangre.

3.2.8 Frotis sanguíneo

Para la preparación del frotis sanguíneo, se siguió un meticuloso procedimiento. Inicialmente, se extrajo una muestra de sangre, que se depositó en tubos EDTA. Luego, se tomó una minúscula cantidad de sangre (0,1 μ l) y se dispuso en un portaobjetos. A continuación, se procedió a extender la muestra con otro portaobjetos en un proceso conocido como "arrastre". Posteriormente, los frotis se sumergieron en un vaso Coplin conteniendo etanol durante 5 minutos para la fijación de las células. Después de este período, se aplicó la tinción de Giemsa, permitiendo que los frotis se tiñeran durante 20 minutos. Previo a la observación microscópica, se colocó un cubreobjetos y se aplicó aceite de inmersión para lograr una visualización óptima de la morfología de los eritrocitos y permitir un análisis detallado. Una vez completado este procedimiento, se observaron las células sanguíneas bajo el microscopio, utilizando un objetivo de 100x de aumento.

3.2.9 Porcentaje de eritrocitos deformes

En el proceso de cálculo del porcentaje de eritrocitos anormales, se llevó a cabo una cuidadosa selección de tres peces que representaban cada uno de los tratamientos: TC, T1 y T2. Para cada uno de estos peces, se realizaron tres frotis sanguíneos distintos. En cada frotis, se examinaron minuciosamente cinco campos de observación al azar bajo el microscopio, utilizando un lente ocular de 100X.

En cada uno de estos campos de observación, se procedió a contar las células sanguíneas que mostraban alguna anomalía morfológica. Este procedimiento se repitió meticulosamente para cada uno de los tres frotis sanguíneos obtenidos de cada pez en cada uno de los grupos de tratamiento.

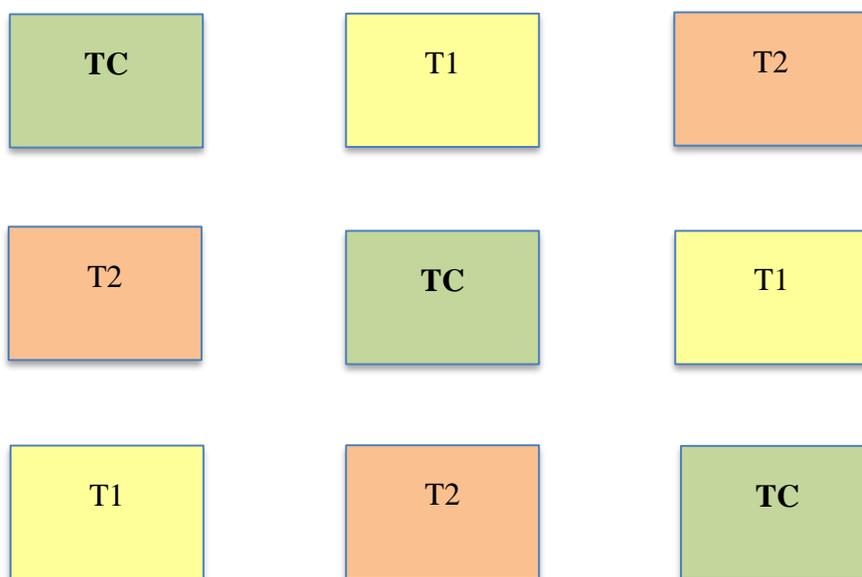
Posteriormente, con el fin de obtener un valor promedio que representara con precisión la incidencia de células anormales en cada tratamiento, se calcularon los promedios de los resultados obtenidos de los tres peces evaluados en cada grupo de tratamiento.

De esta manera, se logró obtener una medida altamente precisa de la proporción de eritrocitos anormales en cada uno de los grupos de estudio, lo que contribuye a una evaluación detallada y fiable de los efectos de los tratamientos TC, T1 y T2 en la morfología de los eritrocitos.

3.3 Diseño experimental

Cuál es el DCA: Diseño experimental completamente al azar.

Croquis



Descripción: Croquis del experimento

Las unidades experimentales consistieron en gavetas de plástico transparente, cada una con una capacidad total de 40 litros. Sin embargo, para prevenir posibles pérdidas de agua debido al desbordamiento, se decidió llenar cada gaveta con un volumen de 35 litros en lugar de su capacidad máxima.

3.4 Análisis estadístico

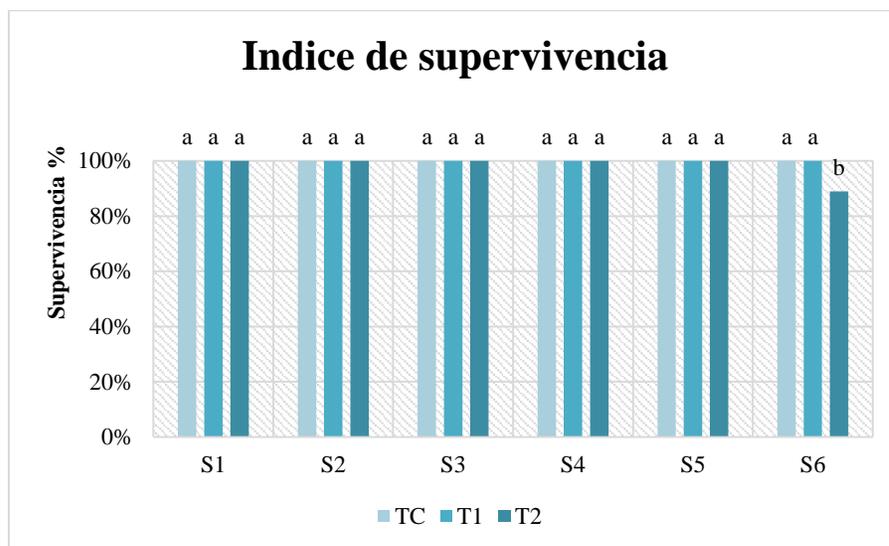
Para llevar a cabo un análisis exhaustivo de los datos obtenidos de las mediciones de eritrocitos, la supervivencia y el índice de crecimiento en la tilapia roja, se empleó el software IBM SPSS Statistics versión 25, junto con un intervalo de confianza del 95%. En este

proceso, se aplicó el método estadístico ANOVA de un factor inter-grupos con el fin de analizar las variaciones entre las medias de los diferentes grupos y determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos. Cuando se detectaban diferencias significativas entre los grupos, se llevaban a cabo pruebas adicionales, como la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Post Hoc), con el propósito de profundizar en la comprensión de las diferencias específicas entre los tratamientos. Este enfoque estadístico riguroso proporcionó información esencial acerca del impacto de los tratamientos en la tilapia roja y contribuyó al avance del conocimiento en este ámbito de estudio.

4. RESULTADO Y DISCUSIÓN

Estos resultados tienen implicaciones significativas en la investigación sobre los efectos de herbicidas como el glifosato en los ecosistemas acuáticos, al proporcionar evidencia sólida de cómo la exposición a estas sustancias puede afectar negativamente a la salud y el crecimiento de la vida acuática.

4.1 Índice de supervivencia



Grafica 1 Porcentaje de supervivencia en los directores tratamientos expuestos a glifosato durante un periodo de 6 semanas

La grafica 1 representa el porcentaje de supervivencia durante las 6 semanas en las que se desarrolló el experimento, en ella podemos observar que durante las primeras 5 semana los tratamientos presentan una supervivencia del 100%.

En cuanto los datos presentados en la supervivencia no se observan diferencias significativas entre los tratamientos y el control, sin embargo; en la semana 6 se produjo una reducción en el índice de supervivencia del tratamiento T2 provocando una diferencia significativa entre el T2 en relación al T1 y TC, culminando el experimento con una supervivencia del 88,89% en la variante con dosis de glifosato más alta. Estos datos se contraponen a los encontrados por Forouhar *et al.*, (2018); en el cual se revela un bajo índice de supervivencia en todos los tratamientos que fueron sometidos a concentraciones por encima de la dosis de 50 ml/L de

glifosato; esta variabilidad de datos en el índice de supervivencia se debe a que las dosis aplicadas en este ensayo fueron menores en relación a las probadas por dicho autor.

Los datos de supervivencia de este ensayo también difieren de los encontrados por Menéndez-Helman *et al.*, (2012); en este experimento no se reportaron bajas en el índice de supervivencia en la especie de pez *Cnesterodon decemmaculatus* incluso en la dosis mas alta del glifosato, esta variabilidad de resultados se debe a que el tiempo de exposición en este experimento fue mayor a la del autor, su experimento tuvo una duración de 96 h; mientras que en este ensayo se evaluó durante un tiempo de 42 días.

4.2 Índice de número de eritrocitos

El parámetro sanguíneo de los peces de prueba cuando se expusieron a concentraciones subletales de glifosato durante 42 días se presenta en la Tabla 2. Se presentan los resultados sanguíneos de los peces expuesto y el control donde se observa que el número más alto de eritrocitos fueron en el TC ($3,25 \times 10^6 \pm 0,19$) y los más bajos en el tratamiento T2 ($2,14 \times 10^6 \pm 0,45$).

Tabla 2. Impacto de la concentración subletal de glifosato en el número de eritrocitos de la tilapia roja. Los valores son media \pm desviación estándar ($p < 0,05$).

Parámetro Sanguíneo	0 mg/L ^a	25 mg/L ^b	50 mg/L ^b
Eritrocitos (cel/mm ³)	$3,25 \times 10^6 \pm 0,19$	$2,43 \times 10^6 \pm 0,57$	$2,14 \times 10^6 \pm 0,45$

De acuerdo con el análisis hematológico para determinar el número de eritrocitos en la tilapia roja (Tabla 2) se observa que: el menor número de eritrocitos fue en el T2 con una media de ($2,14 \times 10^6 \pm 0,45$) seguido de T1 con ($2,43 \times 10^6 \pm 0,57$) a pesar que numéricamente presentan diferencias, no se observó diferencias significativas entre ellos. Pero ambos, difieren estadísticamente del TC ($3,25 \times 10^6 \pm 0,19$), lo que claramente indica que el grupo cuya media se diferencia estadísticamente es el tratamiento TC. Estos datos son similares a los encontrados por Witeska *et al.*, (2022) donde indica que la cantidad de eritrocitos en peces activos es de $3,0$ a $4,2 \times 10^6 /\text{mm}^3$; y de $0,5$ y $1,5 \times 10^6 /\text{mm}^3$ en ejemplares menos activos; aunque se debe tomar en cuenta que estos datos pueden variar según la especie, sexo, condiciones ambientales, entre otros factores.

Estos resultados se relacionan con los obtenidos por Dumitru *et al.*, (2019), en la cual las concentraciones de glifosato 2,5 mg/L y 5 mg/L probadas en la especie *Carassius auratus L.* resultó en una disminución ligera en el número promedio de eritrocitos en comparación con el variante control. También se corroboran con Mohapatra *et al.*, (2021), en el cual demostró que la presencia de glifosato a concentraciones de 2,6 ppm; 3,9 ppm y 7,8 ppm tiene una reducción en el número de eritrocitos en la especie *Anabas testudineus*.

En el ensayo realizado por Uchenna *et al.*, (2022) demuestra que existen diferencias significativas en el número de eritrocitos entre los tratamientos con la dosis de glifosato (0,70 y 1,40 mg/l) y el control, corrobora que la presencia de glifosato ocasiona una disminución en el número de eritrocitos en el *Clarias gariepinus*.

4.3 Porcentaje de eritrocitos con malformaciones

Se examinaron muestras de sangre de cada uno de los tratamientos expuestos a concentraciones de GLY durante seis semanas. Por lo cual se determinó la cantidad de glóbulos rojos anómalos en cada grupo de tratamiento. Los resultados mostraron que los grupos expuestos al herbicida tenían un mayor porcentaje de células deformes en comparación con el grupo de control. Específicamente, el grupo T2 tuvo el mayor porcentaje de células anómalas, con un 26.65%, mientras que los grupos T1 y TC mostraron porcentajes más bajos, del 20.18% y 8,16%, respectivamente, al final del estudio.

Tabla 3. Los porcentajes representan la proporción de glóbulos rojos con deformidades morfológicas en cada grupo de tratamiento después de seis semanas de exposición al herbicida GLY.

Tratamiento	0 mg/L	25 mg/L	50 mg/L
Porcentaje	8,16%	20.18%	26.65%

En la tabla 3, se observa una variación notable en los porcentajes de células deformadas en los diferentes grupos de tratamiento. El grupo T2, que estuvo expuesto a la concentración más alta de GLY, exhibió un porcentaje significativamente mayor de células deformadas (26.65%) en comparación con los grupos T1 (20.18%) y TC (8,16%). Estos hallazgos

sugieren que existe una relación dependiente de la dosis entre la exposición al herbicida y la deformación de los glóbulos rojos. Los resultados de nuestro estudio concuerdan con los hallazgos de Ghaffar *et al.*, (2015) quienes investigaron los efectos del butaclor, en ambos estudios, se observa una relación dosis-dependiente en la deformación de las células sanguíneas en respuesta a los herbicidas. Esto significa que a medida que aumenta la concentración de herbicida, aumenta el porcentaje de células sanguíneas deformadas.

4.4 Alteraciones morfológicas

Se examinaron las características y estructuras de las células en cada tratamiento que fue expuesto al glifosato para evaluar posibles cambios o anomalías en su forma o estructura después de las seis semanas. El análisis muestra, que al incrementar la concentración del herbicida se observa un aumento en el número de anomalías en la membrana celular de los peces tratados. Esto sugiere una relación directa entre la dosis de GLY y la cantidad de células sanguíneas anómalas en los peces expuestos.

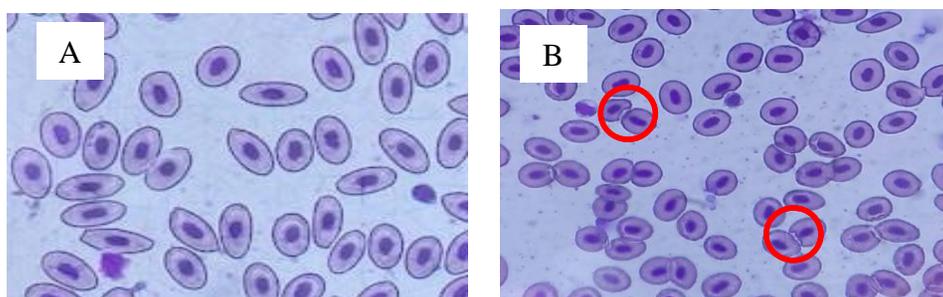


Figure 6. Frotis sanguíneo de *Oreochromis sp.*, expuesto a dosis subletal de GLY. Eritrocitos con membrana citoplasmática normales (A), deformaciones de membrana celular (B). Tinción de Giemsa.

En la figura 3 se observa que las células de los peces expuestos a concentraciones de GLY presentan alteraciones evidentes en la membrana citoplasmática en comparación con las del TC que evidencia estructuras celulares definidas y sin deformaciones. Esta comparación destaca claramente las diferencias entre las células sanas del grupo control y las células anómalas del grupo expuesto al GLY. Estos resultados son similares al estudio de Bojarski *et al.*, (2018), que evaluó los efectos de la pendimetalina y el etofumesato en la morfología de los eritrocitos de la carpa común, en el que se destacan algunas similitudes importantes. Ambos estudios evidencian que la exposición a herbicidas puede inducir cambios en la

morfología de las células sanguíneas de los peces, lo que indica un riesgo potencial para la salud celular en ambientes acuáticos contaminados.

4.5 Índice de masa corporal

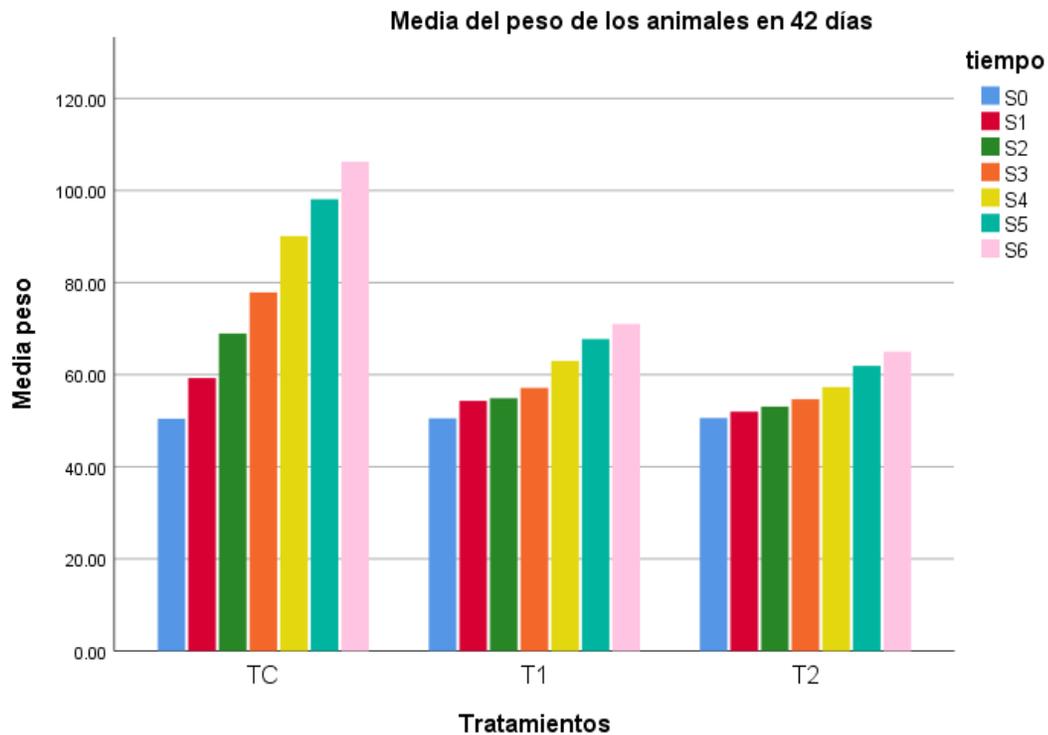
Se analizaron los efectos de la exposición a concentraciones subletales de GLY en la longitud y peso de los peces durante los 42 días que duro el experimento. Se produjo una reducción en cuanto al peso y longitud de los animales que estaban expuestos a las concentraciones de GLY, en cuanto al peso los resultados obtenidos demuestran que el efecto del herbicida fue más pronunciado en esta variable, debido a que; se produjo una reducción significativa en los tratamientos una semana después de iniciar el experimento (25 mg/L y 50 mg/L) (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto del glifosato en el peso (g) de la tilapia roja en varios periodos de crecimiento. Los valores son media \pm desviación estándar ($p < 0,05$).

Tratamiento Semanas	0 mg/L	25 mg/L	50 mg/L
S0	50,42 \pm 0,29 ^a	50,51 \pm 0,20 ^a	50,61 \pm 0,22 ^a
S1	59,28 \pm 0,51 ^a	54,33 \pm 2,02 ^b	51,97 \pm 0,71 ^c
S2	68,92 \pm 0,54 ^a	54,87 \pm 0,56 ^b	53,06 \pm 0,49 ^c
S3	77,84 \pm 0,87 ^a	57,13 \pm 0,73 ^b	54,66 \pm 0,96 ^c
S4	90,07 \pm 0,77 ^a	62,98 \pm 1,28 ^b	57,27 \pm 0,80 ^c
S5	98,08 \pm 0,95 ^a	67,73 \pm 1,13 ^b	61,91 \pm 1,16 ^c
S6	106,23 \pm 1,44 ^a	70,98 \pm 1,25 ^b	65,02 \pm 1,10 ^c

Se puede observar que existen diferencias significativas entre todos los tratamientos a partir de la semana 1, siendo el tratamiento T2 la media de peso por semana más baja en relación al T1 y TC; debido a que las dosis de GLY en este tratamiento fue mayor al T1 y diferente del TC el cual no contenía dosis de GLY (Tabla 4). Estos resultados se asemejan a los encontrados por Salbego *et al.*, (2010) donde demostro que el glifosato produjo una reducción

en el crecimiento de *Leporinus obtusidens*, esto se atribuye a la necesidad de los peces de emplear energía para eliminar el compuesto tóxico.



Gráfica 2. Crecimiento en peso (g) de la tilapia roja expuestas a diferentes concentraciones de glifosatos durante un periodo de 6 semanas

En la siguiente gráfica 2 se ilustra el crecimiento de los peces a lo largo de un período de experimento, partiendo de un peso inicial promedio de 50 gramos. Se comparan tres grupos: el grupo de control, que muestra un crecimiento constante del 10% por semana durante todo el período; el grupo T1, que experimenta un crecimiento inicial más lento, del 5% por semana, seguido de un aumento gradual; y finalmente, el grupo T2, que muestra el crecimiento más lento de todos, con un rango fluctuante entre el 3 y el 4% por semana, estos resultados son similares a los obtenidos por Uchenna *et al.*, (2022) donde se evidencia que la dosis subletal más alta de *Roundup* (herbicida a base de glifosato) fue de 1,40 mg/L presentan en el bagre africano una reducción en el peso, lo que demuestra que este dependía de la dosis. Esta representación visual permite una fácil comparación de los efectos de los diferentes tratamientos con glifosato en el crecimiento de la tilapia roja, destacando diferencias significativas entre los grupos.

En la tabla 5 se efectúa un análisis en el cual se constata que, durante las semanas S0 y S1, no se muestran diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la talla. Esta similitud de datos se deriva de que las medias de las longitudes observadas en los tratamientos se encuentran en proximidad, indicando que las concentraciones de 0 mg/L, 25 mg/L y 50 mg/L no ejercen un efecto estadísticamente discernible en el crecimiento de la talla durante estas fases iniciales del período de experimentación.

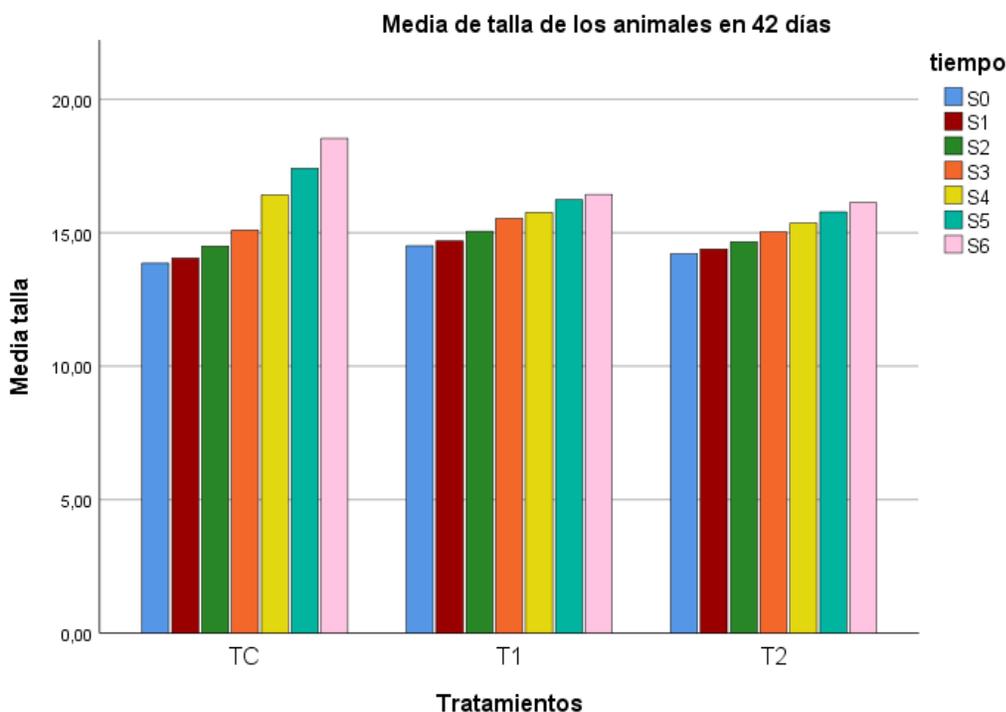
Tabla 5. Efecto del glifosato en la longitud (cm) de la tilapia roja en varios periodos de crecimiento. Los valores son media \pm desviación estándar ($p < 0,05$).

Semanas \ Tratamiento	0 mg/L	25 mg/L	50 mg/L
S0	13,36 \pm 0,29 ^a	13,31 \pm 0,26 ^a	13,31 \pm 0,23 ^a
S1	13,58 \pm 0,31 ^a	13,48 \pm 0,25 ^a	13,48 \pm 0,22 ^a
S2	14,17 \pm 0,30 ^a	13,66 \pm 0,22 ^b	13,64 \pm 0,22 ^b
S3	15,08 \pm 0,38 ^a	14,17 \pm 0,24 ^b	13,80 \pm 0,22 ^c
S4	15,95 \pm 0,28 ^a	14,81 \pm 0,19 ^b	14,05 \pm 0,24 ^c
S5	17,32 \pm 0,42 ^a	15,26 \pm 0,23 ^b	14,35 \pm 0,20 ^c
S6	18,70 \pm 0,35 ^a	15,93 \pm 0,23 ^b	14,77 \pm 0,21 ^c

La diferencia en el tamaño observado entre estos tratamientos se atribuye a la variación en las dosis de glifosato (GLY) aplicadas. Esta divergencia se hace especialmente evidente a partir de la semana S2, cuando se compara el tratamiento expuesto a dosis de 25 mg/L y 50 mg/L con el tratamiento sin exposición al glifosato. El análisis estadístico respalda la existencia de diferencias significativas entre estos grupos, lo que confirma que las fluctuaciones en las dosis de glifosato son responsables de las disparidades observadas en el tamaño de los sujetos en estudio.

Sin embargo, partir de las semanas S3, S4, S5 y S6, se establecen diferencias estadísticamente significativas en lo que respecta al tamaño longitudinal de los organismos entre las distintas concentraciones de tratamientos. Los resultados proporcionan evidencia sólida de que a

medida que avanza el período de tiempo analizado, las discrepancias entre las concentraciones se acentúan, lo cual reviste una importancia crucial para una comprensión exhaustiva del impacto total de las diferentes dosis de tratamiento en la medida específica que está siendo objeto de estudio.



Gráfica 3 Crecimiento en talla (cm) de la tilapia roja expuestas a diferentes concentraciones de glifosatos durante un periodo de 6 semanas

En la gráfica 3 se puede observar que los animales tuvieron un crecimiento a partir de la semana 3, estos resultados se asemejan a lo expuesto por Muhammad *et al.*, (2021) donde menciona que, al aumentar la concentración de glifosato en el entorno de los peces, su capacidad para crecer de manera eficiente se ve afectada de manera significativa. Esta diferencia sugiere que el aumento de la dosis de glifosato tiene un impacto negativo en la tasa de crecimiento longitudinal de la tilapia roja.

5. CONCLUSIONES

Esta investigación ha abordado de manera exhaustiva el impacto de diferentes concentraciones de glifosato en la salud de la tilapia. A lo largo del estudio, se ha logrado alcanzar los objetivos planteados al inicio, destacando varios hallazgos clave.

- La dosis subletal de 50mg/l fue la que presentó menor supervivencia respecto al control lo que indica una clara afectación del glifosato en los peces.
- En cuanto al conteo de eritrocitos se pudo observar que existe una reducción en el número de células en el T2 con relación al tratamiento control sin glifosato.
- Finalmente, el tratamiento T1 con una concentración de 25 mg/L, produjo una reducción en el crecimiento de los organismos, aunque esta disminución no fue tan pronunciada como en el tratamiento T2, que utilizó una concentración de 50 mg/L y experimentó una disminución significativamente mayor en el crecimiento.

Todos estos hallazgos sugieren posibles efectos perjudiciales en la salud de los peces cuando están expuestos a concentraciones subletales y altas de glifosato.

6. RECOMENDACIONES

A pesar de las limitaciones inherentes al estudio, como las restricciones de muestra y las condiciones de laboratorio, esta investigación constituye un valioso aporte al campo de la ecotoxicología y proporciona una base sólida para investigaciones futuras sobre el tema.

Se espera que los resultados aquí presentados estimulen una mayor reflexión sobre la regulación y el uso de herbicidas en entornos acuáticos y contribuyan a la conservación de los ecosistemas acuáticos. En última instancia, este experimento subraya la importancia de comprender los efectos de las sustancias químicas en el medio ambiente y su potencial para impactar positivamente en la toma de decisiones relacionadas con la gestión y protección de los recursos acuáticos.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alcívar Ramos, C. F., Cuenca Nevárez, G. J., Talledo Solòrzano, M. V., & Nevárez Barberán, V. H. (2020, Diciembre 14). Incidencia del uso de buclizina en la crianza de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en estanques artesanales. *ULEAM Bahía Magazine (UBM)*, 1(2), 18-32. From https://revistas.uleam.edu.ec/index.php/uleam_bahia_magazine/article/view/63
- Arboleda Luzón, E. B., Cervantes Alava, A. R., Prado Carpio, E., & Garzón Montealegre, V. J. (2021, Mayo). Gestión de agronegocios de la tilapia roja (*Oreochromis SPP.*) y su comercialización. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 4(2), 58-67. From <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/377/397>
- Arce Uribe, E., & Olivares-Rubio, H. F. (2022, Noviembre). Contaminantes y su efecto en el comportamiento de los peces cíclidos. *Inventio*, 17(43), 1–6. doi:<https://doi.org/10.30973/inventio/2021.17.43/3>
- Aribisala, O. A., Sogbanmu, T. O., & Kemabonta, K. A. (2022). Genotoxic, biochemical and histological biomarkers of subacute concentrations of paraquat and glyphosate in Nile Tilapia. *Environmental Analysis Health and Toxicology*, 37(2), 2022012. doi:<https://doi.org/10.5620/eaht.2022012>
- Avirama Pedromo, L. F., & Garcés López, N. Y. (2021). Determinación de parásitos en dos diferentes densidades de siembre de tilapia roja (*Oreochromis spp*) en un sistemas “RAS” en el Municipio del Tambo (Cauca). *Tesis de grado*. UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO, POPAYÁN. From <http://repositorio.uan.edu.co/handle/123456789/5882>
- Bautista Covarrubias, J. C., & Ruiz Velazco Arce, J. M. (2011). Calidad de agua para el cultivo de Tilapia. *Revista Fuente*, 3(8), 10-14. From <http://dspace.uan.mx:8080/handle/123456789/568>
- Berger, C. (2020, Abril 24). Aquaculture and its potential in the context of Peru’s sustainable development. *South Sustainability*, 1(1), e003. doi:<https://doi.org/10.21142/SS-0101-2020-003>
- Bernstein Romero, M. E., & Maridueña Calderón, K. A. (2022). “Policultivo de bocachicos (*Ichthyoelephas humeralis*) con tilapia roja (*Oreochromis sp.*), bajo condiciones controladas”. *Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista*. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, Guayaquil. From <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/61618>
- Bojarski, B., Lutnicka, H., Swadźba-Karbowy, M., Makulska, J., Jakubiak, M., Pawlak, K., . . . Witeska, M. (2018). Effects of Herbicides Pendimethalin and Ethofumesate on Common Carp (*Cyprinus carpio*) Erythrocyte Morphology. *Folia Biologica (Kraków)*, 66(3), 143-149. doi:https://doi.org/10.3409/fb_66-3.15
- Borja Gallardo, F. J., González Salcedo, L. O., & Quintero de Vallejo, V. E. (2006). Evaluación de alternativas para climatización de estanques con energía solar para cultivo de tilapia roja (*Oreochromis sp*), localizados en la zona fría del valle del cauca, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 59(1), 3295-3310. From http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0304-28472006000100014
- Camero-Escobar, G., & Calderón-Calderón, H. (2018, Junio). Vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva para la producción de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus*) en el departamento del Huila, Colombia. *Revista de Investigación*,

- Desarrollo e Innovación*, 9(1), 19–31.
doi:<https://doi.org/10.19053/20278306.v9.n1.2018.8504>
- Caramello, C. S., Hernandez, D. R., Jorge, M. J., & Jorge, L. C. (2018). Efectos de un herbicida a base de glifosato sobre hematíes de *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae). *Revista veterinaria*, 29(2), 123-127.
doi:<http://dx.doi.org/10.30972/vet.2923277>
- Carranza, E. O., & Aceituno, C. A. (2019, Junio 10). Evaluación de la tolerancia a la salinidad de la tilapia roja. *Revista Ciencia y Tecnología*, 24, 49–63.
doi:<https://doi.org/10.5377/rct.v0i24.7876>
- Castillo, B., Ruiz, J. O., Manrique, M. A., & Pozo, C. (2020, Abril 26). Contaminación por plaguicidas agrícolas en los campos de cultivos en Cañete (Perú). *Espacios*, 41(10), 11. Retrieved 11 14, 2019 from <http://revistaespacios.com/a20v41n10/20411011.html>
- Choudri, B., Charabi, Y., & Ahmed, C. (2018, octubre). Pesticides and herbicides. *Water Environment Research*, 90(10), 1663-1678.
doi:<https://doi.org/10.2175/106143018X15289915807362>
- Colquechambi Barrios, F. (2022). Construcción de estanques para el cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con enfoque comercial en el distrito Quinamara Municipio de San Pedro de Buena Vista norte de Potosí. (*Tesis Doctoral*). Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba. From <http://ddigital.umss.edu.bo:8080/jspui/handle/123456789/36408>
- Díaz, O., & Betancourt Aguilar, C. R. (2018, agosto). Los pesticidas; clasificación, necesidad de un manejo integrado y alternativas para reducir su consumo indebido: una revisión. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(2), 14-30. From <http://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/index>
- Du-Carrée, J. L., Morin, T., & Danion, M. (2021). Impact of chronic exposure of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, to low doses of glyphosate or glyphosate-based herbicides. *Aquatic Toxicology*, 230, 105687.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105687>
- Dumitru, G., Todirascu, E., & Sandu, I. (2019). Effect of Glyphosate Herbicide on Some Hematological and Biochemical Parameters in *Carassius auratus* L. *Revista de Chimie*, 70(2), 518- 521. doi:<https://doi.org/10.37358/RC.19.2.6947>
- Fang, W., Huang, J., Li, S., & Lu, J. (2022). Identification of pigment genes (melanin, carotenoid and pteridine) associated with skin color variant in red tilapia using transcriptome analysis. *Aquaculture*, 547, 737429.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737429>
- FAO. (2020, Julio 08). *GOBLEFISH*. From GOBLEFISH: <https://www.fao.org/in-action/globefish/marketreports/resource-detail/es/c/1365183/>
- FAO. (2022). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Roma: Hacia la transformación azul. doi:<https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- Forouhar Vajargah, M., Mohamadi Yalsuyi, A., Sattari, M., & Hedayati, A. (2018). Acute toxicity effect of glyphosate on survival rate of common carp, *Cyprinus carpio*. *Environment international*, 5(2), 61-66. From <http://ehemj.com/article-1-336-en.html>
- Ganoza Chozo, F., Prieto Dueñas, C., Álvarez Veliz, J., Dibucho Álvarez, O., & Gonzales Molina, L. (2021, Enero). Guía para obtención de alevines de tilapia en ambiente controlado (*Oreochromis niloticus* tilapia gris y *Oreochromis* sp. tilapia roja). *Inf Inst*

- Mar Perú, 48(1), 80-89. From <https://biblioimarpe.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3528>
- Ghaffar, A., Hussain, R., Khan, A., Abbas, R. Z., & Muhammad, A. (2015). Butachlor Induced Clinico-Hematological and Cellular Changes in Fresh Water Fish Labeo. *Pakistan veterinary journal*, 35(2), 201-206.
- González, E., & Fuentes, M. H. (2022, noviembre 09). Dinámica del glifosato en el suelo y sus efectos en la microbiota. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 38, 2-4. doi:<https://doi.org/10.20937/rica.54197>
- Hassaan, M. A., & El Nemr, A. (2020, September). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 207-220. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>
- Jácome, J., Quezada Abad, C., Sánchez Romero, O., Pérez, J. E., & Nirchio, M. (2019, diciembre). Tilapia en Ecuador: paradoja entre la producción acuícola y la protección de la biodiversidad ecuatoriana. *Revista Peruana de Biología*, 26(4), 543-550. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i4.16343>
- Karaket, T., Reung Khajorn, A., & ponza, p. (2023). The optimum dose and period of 17 α -methyltestosterone immersion on masculinization of red tilapia (*Oreochromis* spp.). *Aquaculture and Fisheries*, 8(2), 174-179. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.09.001>
- Kaur, R., Mavi, G. K., Raghav, S., & Khan, I. (2019). Pesticides Classification and its Impact on Environment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(3), 1889-1897. doi:<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.224>
- Lanzarin, G. A., Félix, L. M., Santos, D., Venâncio, C. A., & Monteiro, S. M. (2019, Febrero 11). Dose-dependent effects of a glyphosate commercial formulation – Roundup® UltraMax - on the early zebrafish embryogenesis. *Chemosphere*, 516-520. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.071>
- López-Chavéz, M. Y., Alvarez-Legorreta, T., Infante-Mata, D., Dunn, M. F., & Guillén-Navarro, K. (2021, August 10). Glyphosate-remediation potential of selected plant species in. *Science of The Total Environment*, 781. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146812>
- Lu, B., Guangyuan, L., Xu, M., Wang, C., Tan, D., Tao, W., . . . Wang, D. (2022). Production of all male amelanotic red tilapia by combining MAS-GMT and tyrb mutation. *Aquaculture*, 546, 737327. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737327>
- Luo, L. F., Xu, Z. S., Li, D. Y., Hu, Z., & Gao, Z. X. (2022). Comparative transcriptome profiles of four sexually size dimorphic fish. *Scientific data*, 9(1), 774. doi:<https://doi.org/10.1038/s41597-022-01887-1>
- Martínez Zamora., E. M., & Valle Zúniga, K. B. (2021). Comparación del rendimiento productivo de dos sistemas de cultivos de Tilapia roja. (*tesis de grado*). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-LEÓN, León Santiago de los Caballeros. From <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/9328/1/249260.pdf>
- Martínez, M. A. (2006, Julio 31). *Manejo de cultivo de tilapia*. From <https://www.crc.uri.edu/download/MANEJO-DEL-CULTIVO-DE-TILAPIA-CIDEA.pdf>
- Martins, A. W., Silveira, T. L., Remião, M. H., Domingues, W., Dellagostin, E. N., Varela, A., . . . Campos, V. (2021). Acute exposition to Roundup Transorb® induces systemic oxidative stress and alterations in the expression of newly sequenced genes in

- silverside fish (*Odontesthes humensis*). *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 65127–65139. doi:<https://doi.org/10.1007/s11356-021-15239-w>
- Méndez-Martínez, Y., Pérez-Tamames, Y., Torres-Navarrete, Y., & Reyes-Pérez, J. J. (2018). Estado del arte del cultivo de tilapia roja en la mayor de las antillas. *Biotecnia*, 14-24. doi:<https://doi.org/10.18633/biotecnia.v20i2.593>
- Mendoza Livia , W. R. (2011). Control De Temperatura Y Monitoreo De Ph Del Agua En El Proceso De Incubación De Tilapias Usando Plc. (*Tesis Para Optar El Título De Ingeniero Electrónico*). Pontifica Universidad Católica del Perú, Lima. From https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/909/MENDOZA_LIVIA_WALTER_MONITOREO_PH_AGUA_TILAPIAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Menéndez-Helman, R. J., Ferreyroa, G. V., Alfonso, M. d., & Salibián, A. (2012). Glyphosate as an Acetylcholinesterase Inhibitor in *Cnesterodon decemmaculatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88, 6-9. From <https://link.springer.com/article/10.1007/s00128-011-0423-8>
- Mohapatra, S., Kumar, R., Sundaray, J. K., Patnaik, S. T., Mishra, C., & Rather, M. A. (2021, November 07). Structural damage in liver, gonads, and reduction in spawning performance and alteration in the haematological parameter of *Anabas testudineus* by glyphosate- a herbicide. *Aquaculture research*, 53(2), 1150-1159. doi:<https://doi.org/10.1111/are.14973>
- Moreno Vargas, A. E. (2021). Evaluación de la calidad de agua en cultivos de tilapia alimentados con dietas diferentes de harina hidropónica. (*bachelorThesis*). Universidad de Guayaquil - Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Guayaquil. From <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/52911>
- Muhammad, U. A., Yasid, N. A., Daud, H. M., & Shukor, M. Y. (2021). *Glyphosate Herbicide Induces Changes in the Growth Pattern and Somatic Indices of Crossbred Red Tilapia (O. niloticus × O. mossambicus)* (Vol. 11). *Animals*. doi:<https://doi.org/10.3390/ani11051209>
- Nayak, P., & Solanki, H. (2021, May 31). Pesticides and indian agriculture- a review. *Int J Res Granthaalayah*, 9(5), 252-253. doi:<https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v9.i5.2021.3930>
- Palacio Sierra , S., & Rico Arias, G. S. (2019). Diseño y evaluación de tres prototipos de incubadoras artesanales para la incubacion de huevos embrionados de tilapia roja (*oreochromis sp.*). (*Doctoral dissertation*). UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA. From <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/handle/20.500.12558/1824>
- Paredes-Trujillo, A., & Mendoza-Carranza, M. (2022). Sobre el cultivo de tilapia: relación entre enfermedades y calidad del. *Revista Latinoamericana de Difusión Científica*, 4(7), 34-39. doi:<https://doi.org/10.38186/difcie.47.04>
- Podgorniak, T., Brockman, S., Konstantinidis, I., & Fernández, J. M. (2019). Differences in the fast muscle methylome provide insight into sex-specific epigenetic regulation of growth in Nile tilapia during early stages of domestication. . *Epigenetics*, 14(8), 818–836. doi:<https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1618164>
- Ragab Farag , M., & Alagawany, M. (2018). Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 279, 73-83. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.11.007>

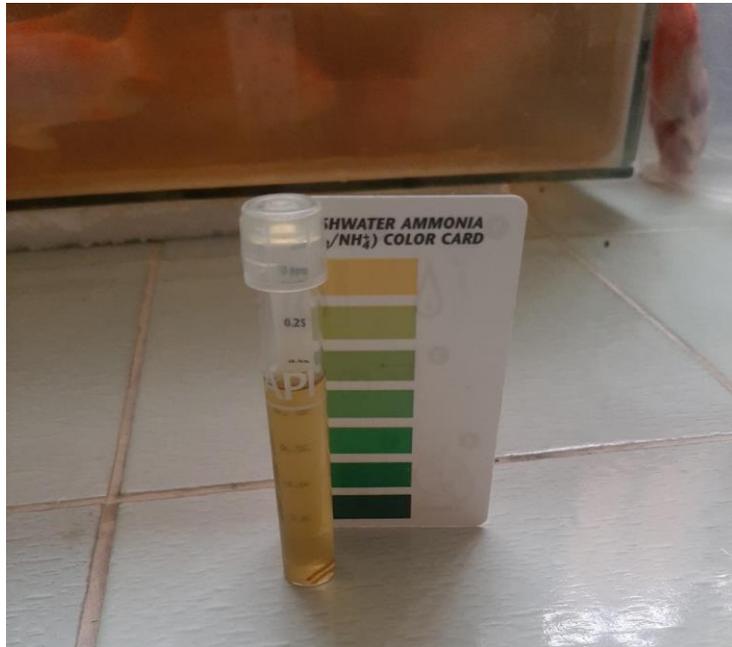
- Ramos Valladao, G. M., Gallani, S. U., & Pilarski, F. (2016). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 351-369. doi:<https://doi.org/10.1111/raq.12164>
- Reyes Serna, L. D. (2018). Densidades idóneas para sistemas de policultivo de especies comerciales Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*) y Carpa Roja (*Ciprynus carpio*) en sistemas de confinamiento artesanal en lagos artificiales en Santiago de Cali (Valle del Cauca, Colombia). *Idesia (Arica)*, 36(1), 73-82. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292018000100073>
- Rivas, T., Espinosa, A., Hernandez, B., & Schwentesius, R. (2022, June 4). Overview of Environmental and Health Effects Related to Glyphosate Usage. *Sustainability*, 14(11), 2. doi:<https://doi.org/10.3390/su14116868>
- Salbego, J., Pretto, A., Rosa Gioda, C., Cavalheiro de Menezes, C., Lazzari, R., Radünz Neto, J., . . . Loro, V. (2010). Herbicide Formulation with Glyphosate Affects Growth, Acetylcholinesterase Activity, and Metabolic and Hematological Parameters in Piava (*Leporinus obtusidens*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 740-745. From <https://link.springer.com/article/10.1007/s00244-009-9464-y>
- Serrano Basurto, L. D., & Zhirzhan Paredes, N. P. (2022). Diseño de un sistema de recirculación acuícola (RAS) a pequeña escala. (*Doctoral dissertation*). ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL, Guayaquil, Guayas, Ecuador. From <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/56692>
- Sharma, R., & Jindal, R. (2022). In vivo genotoxic effects of commercial grade cypermethrin on fish peripheral erythrocytes. *Environmental Molecular Mutagenesis.*, 63(4), 204-214. doi:<https://doi.org/10.1002/em.22484>
- Shefali, Kumar, R., Sankhla, M. S., Kumar, R., & Sonone, S. S. (2021, October). Impact of Pesticide Toxicity in Aquatic Environment. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(3), 10135. doi:<https://doi.org/10.33263/BRIAC113.1013110140>
- Singh, S., Kumar, V., Gill, J. P., Datta, S., Singh, S., Dhaka, V., . . . Singh, J. (2020). Herbicide Glyphosate: Toxicity and Microbial Degradation. *International journal of environmental research and public health*, 17(20), 2. doi:<http://dx.doi.org/10.3390/ijerph17207519>
- Soares, D., Silva, L., Duarte, S., Peña, A., & Pereira, A. (2021, Noviembre 12). Uso, toxicidad y presencia de glifosato en los alimentos. *Alimentos*, 10(11), 1-2. doi:<https://doi.org/10.3390/foods10112785>
- Stosik, M., Tokarz, B., Deptuła, J., & Deptuła, W. (2020). Immune Functions of Erythrocytes in Osteichthyes. *Frontiers in Immunology*, 11, 1914. doi:<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01914>
- Sula, E., Aliko, V., Pagano, M., & Faggio, C. (2019). Digital light microscopy as a tool in toxicological evaluation of fish erythrocyte morphological abnormalities. *Microscopy Research and Technique*, 83(4), 362-369. doi:<https://doi.org/10.1002/jemt.23422>
- Toral, R. O. (2022). "Efectos de diferentes densidades de siembra en la cría de alevines de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) en tanques.". *Tesis de grado*. UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO, Quevedo. From <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6651/1/T-UTEQ-125.pdf>
- Tresnakova, N., Stara, A., & Velisek, J. (2021, September 27). Effects of Glyphosate and Its Metabolite AMPA on Aquatic Organisms. *Applied Sciences*, 11(19). doi:<https://doi.org/10.3390/app11199004>

- Uchenna, U. B., Uka, A., & Obiahu, O. H. (2022). The impact of sub-lethal concentrations of glyphosate on growth and haematology of African catfish under aquatic ecological micro-climate. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 4, 164-170. doi:<https://doi.org/10.1016/j.enceco.2022.06.001>
- Urías-Sotomayor, R., Maeda-Martínez, A. N., Garza-Torres, R., García-Morales, R., & Navarro Murillo, R. (2022). análisis de la producción de crías de tilapia *Oreochromis niloticus*(Linnaeus, 1758) en instalaciones acuícolas en México de 2014-2021. *AquaTechnica*, 4(1), 1-6. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.6360811>
- Vargas, M. F. (2019). Parámetros hematológicos y bioquímicos del capitán de la sabana en diferentes sistemas de explotación. *Zoociencia*, 6(1), 1–6. From <https://revistas.udca.edu.co/index.php/zoociencia/article/view/1283>
- Widyawati, Y., Fajri, M., Dailam, M., & Arifin, B. N. (2021). Masculinización de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) usando 17 α -metil testosterona. *Tomini Journal of Aquatic Science*, 2(1), 11.
- Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., & Bojarski, B. (2022). Hematological methods in fish – Not only for beginners. *Aquaculture*, 547, 737498. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>
- Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., & Bojarski, B. (2022). Hematological methods in fish – Not only for beginners . *Aquaculture* , 547, 737498. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>
- Zabotkina, E. A., Golovanov, V. K., & Golovanova, I. L. (2018). Effects of Roundup Herbicide and Increase in Water Temperature on the Parameters of Peripheral Blood Cells in Amur Sleeper *Percottus glenii* Dybowski. *Inland Water Biol* , 11, 207-213. doi:<https://doi.org/10.1134/S1995082918020190>
- Zheng, T., Jia, R., Cao, L., Du, J., Gu, Z., He, Q., . . . Yin, G. (2020). Effects of chronic glyphosate exposure on antioxidant status, metabolism and immune response in tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 239, 2-8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108878>

8 ANEXOS



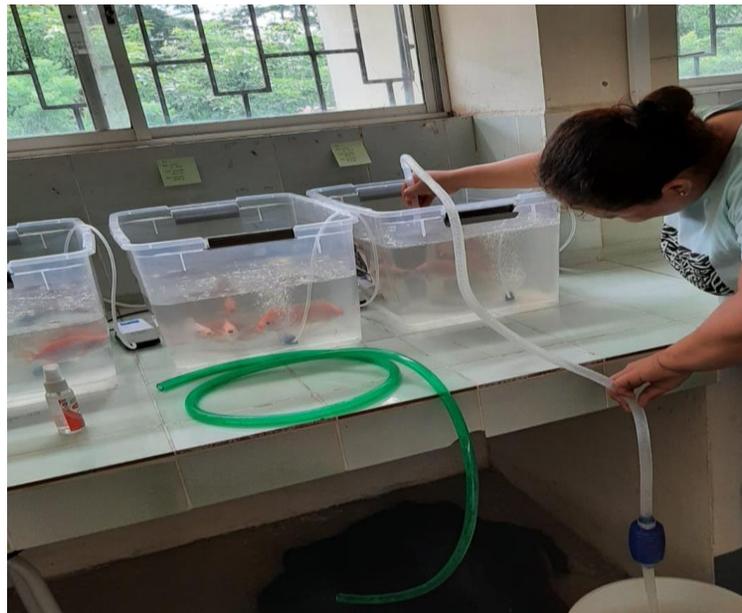
Anexo 1: Montaje del experimento



Anexo 2. Prueba de amonio con test colorimétrico



Anexo 3. Peso semanal



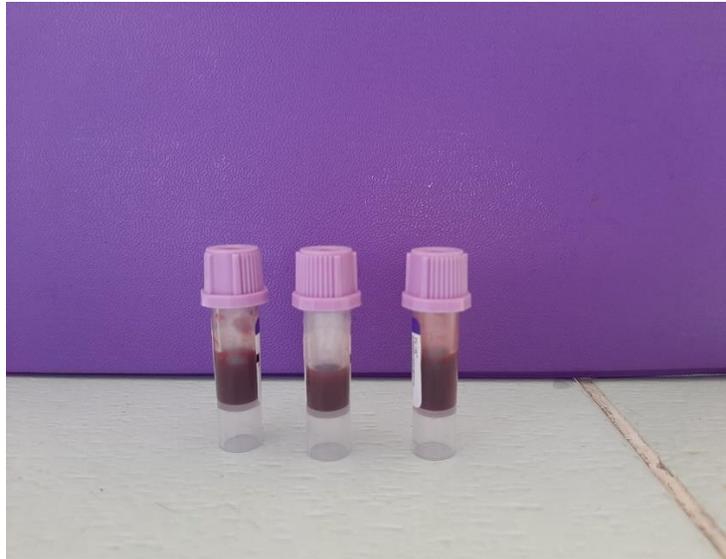
Anexo 4. Recambio de agua.



Anexo 5. Materiales para análisis de sangre.



Anexo 6. Extracción de sangre para análisis.



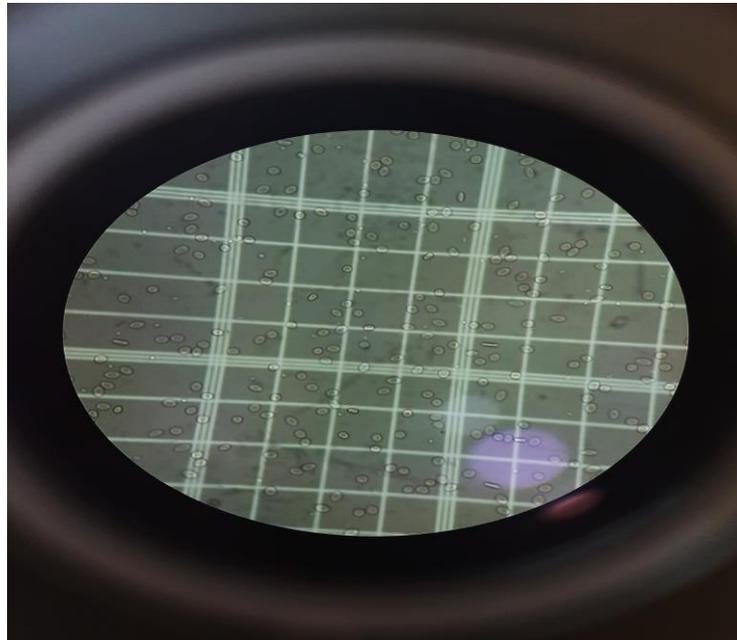
Anexo 7. Muestras de sangre.



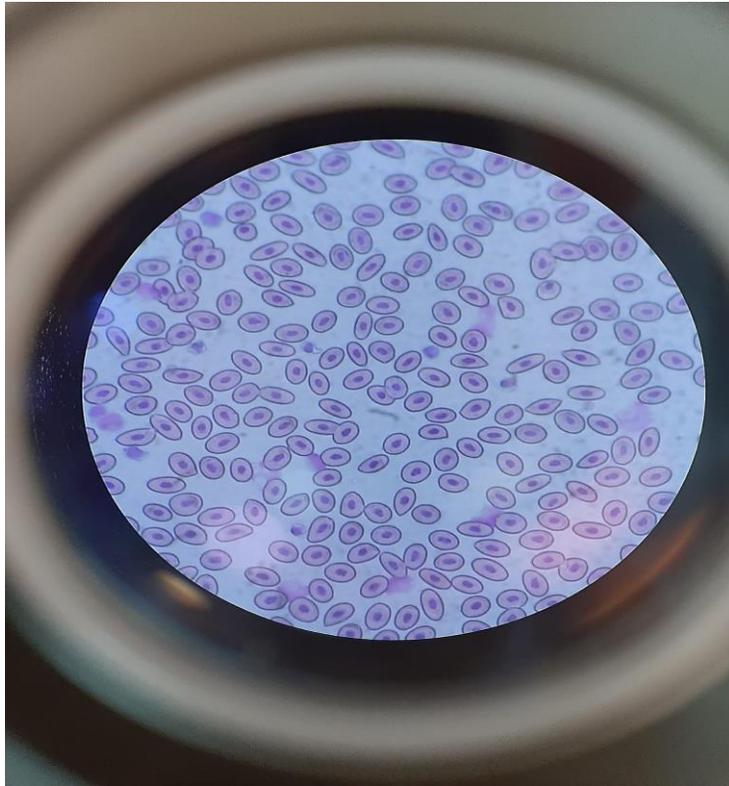
Anexo 8. Frotis sanguíneo



Anexo 9. Aplicación de muestra en cámara Neubauer.



Anexo 10. Conteo de número de eritrocitos.



Anexo 11. Morfología de eritrocitos.