



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE GUAYAQUIL
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

**EVALUACIÓN A NIVEL HISTOLÓGICO DE ALTERACIONES OCASIONADAS POR
LA PRESENCIA DE METALES PESADOS CADMIO Y PLOMO EN LA ESPECIE
Anadara tuberculosa OBTENIDA EN 11 MERCADOS MUNICIPALES DEL SUR DE LA
CIUDAD DE GUAYAQUIL**

Trabajo de titulación previo a la obtención del

Título de: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORES: Katuska Isabel Arreaga Chalén

Kelly Ailen Loja Chalén

TUTORA: MSc. Carina Elizabeth Hidalgo Ramírez.

Guayaquil-Ecuador

2023

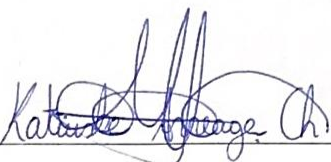
**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Nosotros, Katiuska Isabel Arreaga Chalén con documento de identificación N° 0951519966 y Kelly Ailen Loja Chalen con documento de identificación N° 0952492650; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

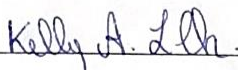
Guayaquil, 07 de septiembre de 2023.

Atentamente,



Katiuska Isabel Arreaga Chalén

0951519966



Kelly Ailen Loja Chalen

0952492650

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Katuska Isabel Arreaga Chalén con documento de identificación No. 0951519966 y Kelly Ailen Loja Chalen con documento de identificación No. 0952492650, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: “EVALUACIÓN A NIVEL HISTOLÓGICO DE ALTERACIONES OCASIONADAS POR LA PRESENCIA DE METALES PESADOS CADMIO Y PLOMO EN LA ESPECIE *Anadara tuberculosa* OBTENIDA EN 11 MERCADOS MUNICIPALES DEL SUR DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL.”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero en Biotecnología, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

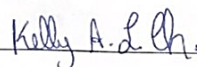
Guayaquil, 07 de septiembre de 2023

Atentamente,



Katuska Isabel Arreaga Chalén

0951519966



Kelly Ailen Loja Chalen

0952492650

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Carina Elizabeth Hidalgo Ramírez con documento de identificación N° 1722655519, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EVALUACIÓN A NIVEL HISTOLÓGICO DE ALTERACIONES OCASIONADAS POR LA PRESENCIA DE METALES PESADOS CADMIO Y PLOMO EN LA ESPECIE *Anadara tuberculosa* OBTENIDA EN 11 MERCADOS MUNICIPALES DEL SUR DE LA CIUDAD DE GUAYAQUIL, realizado por Katuska Isabel Arreaga Chalén con documento de identificación N° 0951519966 y por Kelly Ailen Loja Chalen con documento de identificación 0952492650, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 07 de septiembre de 2023

Atentamente,



Msc. Carina Elizabeth Hidalgo Ramírez

C.I.: 1722655519

Dedicatoria

Este proyecto de investigación se lo dedico a mi tío Manuel Ángel Chalén Guerrero, a mis padres Azúcena Chalén Guerrero y William Arreaga Candelario; a mi abuelita Hilda Guerrero y a mi hermano Jonathan Arreaga por haber confiado en mí proceso universitario y sobre todo por ser los pilares fundamentales en mi vida.

Katiuska

Dedico esta investigación a mi madre Julisa Chalen y mi abuela Rosario Piguave que, desde el primer día de mi carrera, su confianza en mis capacidades me ha impulsado a alcanzar cada meta. Con su apoyo constante, han sido faros de luz en mi camino académico. Sus lecciones de vida y sacrificio son un recordatorio constante de que, con determinación y esfuerzo, cualquier obstáculo puede superarse. A estas mujeres fuertes, les agradezco profundamente por ser mi inspiración y guía en esta etapa universitaria.

Kelly

Agradecimientos

A mi tío por su apoyo incondicional, gracias por ser mi ejemplo a seguir; a mi abuelita por estar en mis momentos más difíciles y enseñarme a ser optimista.

A mis amistades, por regalarme momentos únicos y por el apoyo desde el primer semestre, principalmente a Kelly Loja, quien es una persona intelectual e inolvidable, gracias por tu paciencia y esfuerzo en nuestro trabajo experimental.

Al ingeniero Kevin Cedeño por haber creído en nuestro potencial y alentarnos con sus palabras, a la tutora Carina Hidalgo porque nos ayudó a despejar ciertas dudas de la investigación y a los profesores Joffre Medina y Johanna Solórzano por habernos apoyado en este proceso de titulación.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a mi compañera de tesis Katuska Arreaga quien es una persona motivadora, la energía y entusiasmo que me compartió en el trayecto de esta investigación me impulso a sacar lo mejor de mis capacidades.

Katuska & Kelly

Resumen

Se analizaron las concentraciones de metales cadmio y plomo, así como el daño histológico en muestras de concha prieta (*Anadara tuberculosa*) recolectadas en 11 mercados municipales en el sector sur de Guayaquil. Las muestras fueron enviadas al laboratorio para evaluar su peso e identificar sus estructuras morfológicas y evaluar el porcentaje de lesión en los tejidos de órganos seleccionados. Esto se hizo utilizando técnicas de tinción en cortes histológicos. La Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente, también conocida por sus siglas en inglés como ICP-OES, se utilizó para determinar las concentraciones de cadmio y plomo presentes en el molusco.

Se utilizaron dos métodos, tanto para la determinación de metales pesados como para la histología. Además, se compararon muestras expuestas a metales pesados con muestras menos expuestas (CENAIM), estas conchas prietas son tratadas con ciertos parámetros para evitar que exista un mayor rango de concentraciones de metales pesados en esta especie.

Resultó que en la mayoría de las muestras de concha prieta se encontraron porcentajes de alta concentración en cadmio con un rango de $2,3 > 1$, mientras que las concentraciones de plomo fueron bajas con un rango de $0,5 < 1,5$. Para comparar con los límites permisibles de la Unión Europea 1881/2006, estos datos registrados en ppm de peso seco fueron convertidos a peso húmedo.

En el área de daños histológicos, se descubrió que las muestras de la glándula digestiva presentaban lesiones graves con un porcentaje del 45%, lo que indicaba una pérdida de

citoarquitectura. También se observó una gran variación en el músculo aductor, con lesiones leves del 40% en cuanto a infiltración hemocítica en algunos casos.

Según nuestra investigación, los rangos de límite de ingesta de $0,5 < 1$ indican que son rangos con menos riesgo cancerígeno para la población que lo consume a diario en los mercados municipales del sur de la ciudad de Guayaquil.

Se espera que con estos hallazgos podamos llevar a cabo otros proyectos de acuicultura relacionados con la especie *Anadara tuberculosa*, que es la que se consume con mayor frecuencia.

Palabras clave: Metales pesados, histología, *Anadara tuberculosa*, ICP-OES, límite de ingesta.

Abstract

The concentrations of cadmium and lead metals were analyzed, as well as the histological damage in samples of Concha Prieta (*Anadara tuberculosa*) collected in 11 municipal markets in the southern sector of Guayaquil. The samples were sent to the laboratory to evaluate their weight and identify their morphological structures and evaluate the percentage of injury in selected organ tissues. This was done using staining techniques in histological cuts. Optical emission spectrometry by inductively coupled plasma, also known by its acronym in English as ICP-OES, was used to determine the concentrations of cadmium and lead present in the mollusk.

Two methods were used, both for the determination of heavy metals and for histology. In addition, samples exposed to heavy metals with less exposed samples (Cenaim) were compared, since these prietary shells are treated with certain parameters to prevent a greater rank of heavy metal concentrations in this species.

It turned out that in most of the samples of Concha Prieta there were percentages of high concentration in cadmium with a range of $2.3 > 1$, while lead concentrations were low with a range of $0.5 < 1.5$. To compare with the permissible limits of the European Union 1881/2006, these data registered in PPM of dry weight were converted to wet weight.

In the histological damage area, it was discovered that the shows of the digestive gland had serious injuries with a percentage of 45%, which indicated a loss of cytoarchitecture. A great variation in the adductor muscle was also observed, with slight leve lesions of 40% as a hemocytic infiltration in some cases.

According to our research, the $0.5 < 1$ intake limit ranges indicate that they are ranges with less carcinogenic risk for the population that consumes it daily in the municipal markets of the south of the city of Guayaquil.

It is expected that with these findings we can carry out other aquaculture projects related to the species *Anadara tuberculosa*, which is the one consumed most frequently.

Keywords: Heavy metals, histology, *Anadara tuberculosa*, ICP-OES, intake limit.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes	2
1.2. Planteamiento del problema	3
1.3. Pregunta de investigación	5
1.4. Objetivos	6
1.4.1. <i>Objetivo General</i>	6
1.4.2. <i>Objetivos Específicos</i>	6
1.5. Hipótesis	7
1.5.1. <i>Hipótesis alternativa</i>	7
1.5.2. <i>Hipótesis nula</i>	7
1.6. Justificación	7
1.7. Delimitación	8
1.7.1. <i>Delimitación Académica</i>	8
1.7.2. <i>Delimitación Espacial</i>	8
1.7.3. <i>Delimitación Temporal</i>	8
CAPÍTULO II	9

2. FUNDAMENTO TÓRICO.....	9
2.1. Manglares	9
2.1.1. Definición.....	9
2.1.2. Características	10
2.1.3. Manglar en Ecuador.....	11
2.1.4. Problemáticas medioambientales de los manglares	12
2.2. Metales pesados.....	13
2.2.1. Definición y características nocivas para la salud.....	13
2.2.2. Cadmio.....	14
2.2.3. Plomo.....	15
2.3. Anadara tuberculosa	15
2.3.1. Definición.....	15
2.3.2. Taxonomía	16
2.3.3. Morfología	16
2.3.4. Fisiología	17
2.3.5. Estadios.....	17
2.3.6. Capacidad de absorción metales pesados en <i>Anadara tuberculosa</i>	17
2.3.7. Órganos	18
2.3.8. Histología.....	19

2.3.9.	<i>Parámetros de lesiones</i>	22
2.4.	CENAIM	22
2.4.1.	<i>Definición</i>	22
2.5.	Efectos relacionados a la acumulación de metales en organismos acuáticos	23
2.5.1.	<i>Bioacumulación en la fauna marina</i>	23
2.5.2.	<i>Mecanismos de filtración</i>	24
2.6.	Efectos adversos por toxicidad de metales traza en organismos acumuladores	24
2.6.1.	<i>Adherencia en organismos filtradores a causa de metales</i>	25
2.7.	Técnicas de determinación de cadmio y plomo	26
2.7.1.	<i>Espectrometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente</i>	26
2.8.	Normativa de salud establecida a nivel internacional	27
2.8.1.	<i>Reglamento de la Unión Europea N° 1881/2006</i>	27
2.9.	Límite de ingesta	28
2.9.1.	<i>Definición</i>	28
2.9.2.	<i>Riesgos a la salud humana</i>	28
CAPÍTULO III		29
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1.	<i>Diseño experimental</i>	29
3.2.	<i>Población y muestra</i>	29

3.3. Variables	29
3.4. Recolección y análisis de datos	29
3.5. Protocolos	30
3.5.1. <i>Procesamiento del material biológico</i>	30
3.5.2. <i>Digestión ácida</i>	31
3.5.3. <i>Medición de cadmio y plomo</i>	32
3.5.4. Procedimiento histológico	33
3.5.4.1. <i>Determinación morfológica de órganos y estructuras de A. tuberculosa</i>	33
3.5.4.2. <i>Estudio histológico del músculo aductor y glándula digestiva en Anadara tuberculosa</i> 34	
3.5.4.3. <i>Fijación</i>	34
3.5.4.4. <i>Deshidratación</i>	34
3.5.4.5. <i>Inclusión (parafina)</i>	35
3.5.4.6. <i>Cortes de tejidos parafinados</i>	35
3.5.4.7. <i>Desparafinización</i>	35
3.5.4.8. <i>Tinción</i>	36
3.5.5. <i>Análisis estadístico</i>	38
CAPÍTULO IV	40
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40

CAPÍTULO V	62
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
5.1. Conclusiones	62
5.2. Recomendaciones	63
CAPÍTULO VI	64
6. Referencias bibliográficas	64
7. Anexos	69

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación por metales pesados es un problema a nivel global, que puede causar toxicidad y acumulación en los organismos vivos, presentando un riesgo para los ecosistemas y las poblaciones humanas (Roccoliello, y otros, 2014).

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación los bioacumuladores son el tercer grupo más importante de organismos marinos en América Latina, registrando 130.000 toneladas, lo que aumenta los índices de venta (FAO, 2017).

Los invertebrados bentónicos sufren bioacumulación a causa de su alimentación, en base a esto, Soegianto & Supriyanto, (2008) argumentan que la acumulación progresiva de fragmentos de metales pesados en diversos órganos de animales marinos conduce a lesiones causadas por la presencia de un metal. Esto se asevera con los estudios realizados por Stanley, (2003) en donde determinan que las incrustaciones presentes en el tejido blando poseen relación con órganos afectados debido a la acumulación de estos contaminantes traza.

Según Babalola (2017) el peligro que desencadena la presencia de estos elementos genera mayor impacto por su origen de difícil degradabilidad. Permanecen en el medio ambiente a través del suelo, agua o aire (Briffa, Sinagra, & Blundell, 2020). En Ecuador, *Anadara tuberculosa* es una especie de bivalvo que se comercializa a través de la pesca artesanal en las costas de las provincias cercanas al Golfo de Guayaquil (Paredes, 2000).

La extracción de este recurso se encuentra en áreas de manglar, ubicadas al norte de la Provincia de Esmeraldas, al sur de la Provincia del Guayas y en el Archipiélago de Jambelí en la provincia del Oro (Mora, 2004). El producto capturado se descarga en el muelle, distribuyéndose a través de los canales de comercialización de forma mayoristas y minoristas (Cabanilla, 2010).

La comercialización de este pecelípodo *A. tuberculosa* suele aumentar de manera significativa satisfaciendo la demanda de consumo interno del país. (Prado, y otros, 2022). De acuerdo con Carpio, y otros, (2020), la cantidad de conchas prietas vendidas en los mercados municipales de la provincia de Guayaquil varía entre el 51,67% y el 94,44%.

En la actualidad, los mercados municipales de Guayaquil son una fuente importante de sumini de alimentos para la población local, con 34 mercados distribuidos en: 24 en el Sur y 10 en el Norte de la ciudad.

1.1. Antecedentes

De acuerdo con la información de los investigadores Pernia, Cornejo, Mero, & Zambrano, (2019) el impacto de la contaminación del ecosistema de manglar surge a causa de numerosos factores, entre los que destacan las actividades antropogénicas que producen contaminantes tóxicos que al ponerse en contacto con el medio ambiente, repercuten en la modificación de estos ecosistemas, en el que se han encontrado aglomeraciones de Cadmio, Plomo, Mercurio, entre otros.

Según Mendoza, (2014) en los ejemplares de *A. tuberculosa* obtenidos de la provincia de Esmeraldas se reportan concentraciones medias de metales pesados, en

Cadmio el cual sobrepasa los límites permisibles de la Unión Europea, siendo un posible riesgo para el consumo humano. A su vez, Tobar, Ramírez, & Senior, (2018) evalúan la concentración de metales traza mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica, corroborando en su investigación que esta especie es obtenida del Estero Huyalá supera los límites permisibles de la Unión Europea. Adicional, la investigación realizada por Santana, (2022) determina concentraciones bajas de los metales Mercurio y Plomo en *A. tuberculosa* mediante la técnica ICP-OES, en donde determinan que las muestras no superan los rangos máximos permisibles emitidos por la Normativa Europea, alcanzando valores de 0.5 mg/kg para Mercurio y 1.5 mg/kg para Plomo. Lo mismo ocurre con Nasevilla, y otros, (2022) aunque no superan los límites permisibles establecidos por la Comisión Europea y la FAO/OMS, los resultados sugieren que la ingesta de *A. tuberculosa* puede reflejar riesgos significativos para la salud.

1.2. Planteamiento del problema

Los manglares poseen una amplia gama de biodiversidad de especies (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2023). Los organismos biológicos que residen en los manglares son la principal fuente de alimentación de las comunidades costeras, su uso como fuente de alimento para consumo se ha extendido a lo largo de generaciones (Cevallos & Mora, 2021). Este recurso beneficia a miles de familias, sobre todo a los que se dedican a la recolección o acopio como su fuente de ingreso, como a comerciantes y centros en donde venden el producto en fresco (Caicedo, 2018).

La acumulación de metales pesados en los manglares perturba a los ecosistemas frágiles afectando el crecimiento continuo de la mayoría de especies nativas (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, 2023).

Los manglares están viéndose afectados por la mayoría de los efluentes que vierten las industrias, el agua contaminada contiene toxinas que se entrecruzan con las aguas de río y las vías fluviales de las zonas costeras (CEPAL, 2002). Se han realizado estudios de contaminación por metales en sedimentos, manglares y especies marinas en las provincias de Guayas y Esmeralda para evaluar los niveles de contaminación ambiental y riesgos para la salud (Romero, Monsalve, Duran, & Simbaña, 2020).

Las actividades industriales, en particular las minerías ilegales de Ecuador como en las provincia de Esmeraldas, Machala u otras, actividad portuaria e industria petrolera causan graves daños a los organismos acuáticos (Pernia, Cornejo, Mero, & Zambrano, 2019). Según Yépez, (2010) declara que *A. tuberculosa* se encuentra con reducida incidencia en las áreas de manglar, lo que indica el estado de amenaza en el que se encuentra este recurso natural debido a los cambios en la hidrodinámica y la remoción de contaminantes. Los cambios en el uso de la tierra contribuyen a la extinción de *A. tuberculosa*, así como la pérdida de áreas de recolección, lo que conduce a la sobreexplotación, poniendo en peligro a la especie (Tenorio, Pineda, & Vega, 2022).

En los moluscos bivalvos el impacto se vuelve negativo en proporción a su morfología y tamaño, a concentraciones determinadas de ciertos metales como plomo, cadmio y cromo (Collaguazo, Armijos, & Machuca, 2017). La especie *A. tuberculosa* tiene

elevada capacidad de retención de metales en sus órganos de los tejidos blandos (Cedeño & Zambrano, 2017). Las técnicas histológicas realizadas en bivalvos reflejan el daño ocasionado en el tejido permitiendo la correlación con la salud del organismo (Sharma, Pranav, & Gangadharan, 2021).

El Instituto Nacional de Pesca realiza diferentes investigaciones enfocadas a las especies marinas dando prioridad a la importancia ecosistémica, informando a los Ecuatorianos los riesgos o cambios que se diesen en estos recursos (INOCAR, 2021).

Existe poca evidencia de las lesiones que puede presentar este moluscooxi, por tal motivo, nuestra investigación esta centrada en evaluar a nivel histológico las alteraciones ocasionadas por la presencia de metales, cadmio y plomo en *Anadara tuberculosa*, especie que se obtendra de 11 mercados municipales del Sur de la ciudad de Guayaquil (Caraguay, Gómez Rendón, Minorista, Central, Garay, Grau Ruíz, Esclusas, Isla Trinitaria, Guasmo Sur, Guasmo Norte, Municipal Este), con la finalidad de determinar el nivel de concentración y evaluar el límite de ingesta humana siguiendo el reglamento 1881/2006 de la Unión Europea.

1.3. Pregunta de investigación

¿ En qué órganos del molusco bivalvo *Anadara tuberculosa* se encuentra mayor alteración histológica por la presencia Cadmio y Plomo?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

- Evaluar a nivel histológico alteraciones ocasionadas por la presencia de metales pesados cadmio y plomo en la especie *Anadara tuberculosa* obtenida en 11 mercados municipales del Sur de la ciudad de Guayaquil.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar el contenido de cadmio y plomo mediante espectrometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente en muestras de *Anadara tuberculosa* obtenidas de 11 mercados municipales del Sur de la ciudad de Guayaquil.
- Evidenciar alteraciones en tejidos de *Anadara tuberculosa* mediante la aplicación de procedimientos histológicos que permitan evidenciar modificaciones relacionadas a la concentración de metales.
- Evaluar el límite de ingesta diaria entre la concentración obtenida de metales del estudio en comparación a las tablas informativas del reglamento 1881/2006 de la Unión Europea como indicador del riesgo en la salud humana.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis alternativa

Existe presencia de daño en el tejido por alta concentración de metales cadmio y plomo en especies de *Anada Tuberculosa* recolectadas en los 11 mercados municipales del Sur de la Ciudad de Guayaquil.

1.5.2. Hipótesis nula

No existe presencia de daño en el tejido por alta concentración de metales cadmio y plomo en especies de *Anada Tuberculosa* recolectadas en los 11 mercados municipales del Sur de la Ciudad de Guayaquil.

1.6. Justificación

Los bivalvos son esenciales en la producción de alimentos del consumo ecuatoriano, expendiéndose a nivel nacional e internacional (Vásquez & Nazareno, 2014). Estos organismos son afectados por su capacidad alimentaria, que consiste en filtrar agua a los alrededores (Hidayah, Januar, & Hermana, 2019; Rong, Tang, Ren, Taylor, & Razlutskiy, 2021).

Se evidencia que estos bioacumuladores almacenan metales traza dentro de su organismo, en lo que respecta a nivel intercelular se forma granulaciones por la presencia del contaminante las cuales son generadas por el estrés oxidativo de lípido (Arslan, Tchounwou, Fengxiang, & Turquoise, 2018).

Las investigaciones realizadas para analizar alteraciones en el tejido de la clase bivalva han sido numerosas. Sin embargo, existe un mínimo de hallazgos en base a la

familia Arcidae, entre este grupo mencionado se identifica la especie *Anadara tuberculosa* (Afati, 2007).

Este proyecto de investigación tiene como objetivo determinar las concentraciones de cadmio y plomo para evidenciar los tipos de alteraciones histológicas causadas por estos contaminantes, de manera adicional se pretende establecer una comparativa de los datos obtenidos con la normativa del Reglamento de la Unión Europea 1881/2006 que permita determinar los límites permisibles de ingesta de los metales de interés presentes en las muestras de estudio.

1.7. Delimitación

1.7.1. Delimitación Académica

Los procesos de este trabajo experimental se realizaron con la revisión bibliográfica relacionada con la guía de la tutora y cotutor designados.

1.7.2. Delimitación Espacial

La recolección de la especie *A. tuberculosa* se llevó a cabo en 11 mercados municipales ubicados en el Sur de la ciudad de Guayaquil, en la provincia del Guayas, la parte experimental fue realizada en el laboratorio de instrumental situado en la Universidad Politécnica Salesiana – Campus María Auxiliadora km 19,5 vía a la Costa – Sede Guayaquil.

1.7.3. Delimitación Temporal

El proyecto experimental duró 4 meses, en el período de mayo a agosto del 2023.

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTO TÓRICO

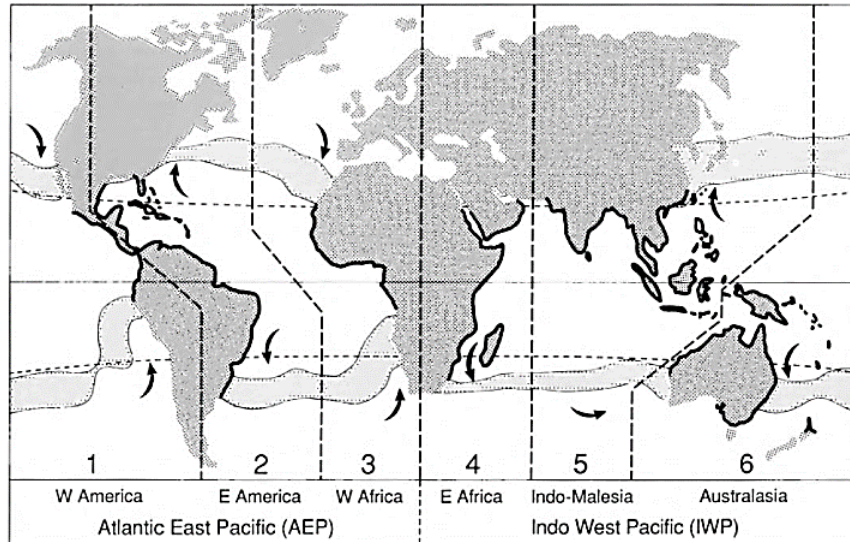
2.1. *Manglares*

2.1.1. *Definición*

Un manglar es una especie arbórea leñosa que habita entre el mar y la tierra, en zonas que la mayor parte del tiempo se encuentran inundadas por el cambio constante de las mareas (Miththapala, 2008). Se encuentra relacionado con los océanos, zonas tropicales, subtropicales, que influyen en el incremento de la biodiversidad (FAO, 2007). Estos ecosistemas están presentes en la mayoría de los territorios (Fig.1), alrededor de 123 países en dónde tienen una superficie aproximada de 152.000 Km^2 (Spalding, 2010).

Estos bosques acuáticos, al estar expuestos a situaciones de inundación impulsan el incremento de la diversidad ecológica que se desarrolla entre las raíces del manglar (Hossain & Nuruddin, 2016); y se ve también influenciada por la latitud geográfica, precipitación, tasas de sedimentación, salinidad y nutrientes que favorecen la calidad del suelo del pantano (Pullaiah, Sudhir, & Ashton, 2022).

Figura 1 Distribución mundial de los manglares, extensión costanera y principales corrientes oceánicas que intervienen en el rango latitudinal.



Fuente: (Alistar, Robertson, & Alongi, 1992).

2.1.2. Características

Una propiedad común del manglar es que tiene condiciones favorables para que habiten peces, crustáceos, moluscos, gasterópodos, entre otros (EPA, 2022 ; Rainforest Trust, 2023). Estas especies encuentran protección entre las raíces aéreas de estos árboles en sus estadios larvales, como en sus etapas adultas. El bosque de manglar brinda un servicio ecosistémico de regulación a las poblaciones humanas contra el ataque de marejadas ciclónicas (Grover, 2023).

El rasgo morfológico más evidente en los manglares son su sistema de raíces que emergen sobre las aguas, sobre todo en marea baja. Están especializadas en el intercambio de gases, lo que incrementa la producción de suelos anaeróbicos y salinos (Dharmendra, Phulwaria, Rajesh, & Rastogi, 2022).

2.1.3. Manglar en Ecuador

Se reporta alrededor de 160.000 hectáreas de manglares como se demuestra en la (Fig. 2) en las provincias de Esmeraldas, Manabí, Guayas compuestas por seis tipos de manglares como *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans*, *Laguncularia racemosa*, *Rizophora harrisonii*, *Conocarpus erectus* y *Pelliciera rhizophorae* (Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológico, 2021).

Las principales áreas que guardan manglares son: los ríos Santiago, Muisne, la Bahía de Caráquez, el Golfo de Guayaquil, incluyendo sus islas y canales como Puerto Bolívar y el Archipiélago de Jambelí (Sánchez, 2019).

Figura 2 Distribución los manglares a lo largo de la Costa del Pacífico



Nota: Ubicación geográfica de las zonas costanera del Pacífico.

Fuente: (Cornejo, 2014).

2.1.4. Problemáticas medioambientales de los manglares

El cambio radical de estas zonas es afectado por la acumulación de contaminantes, en el medio marino, lo que provoca que los residuos de estos elementos queden en los sedimentos o sean consumidos por los organismos acuáticos (Frémion, y otros, 2016).

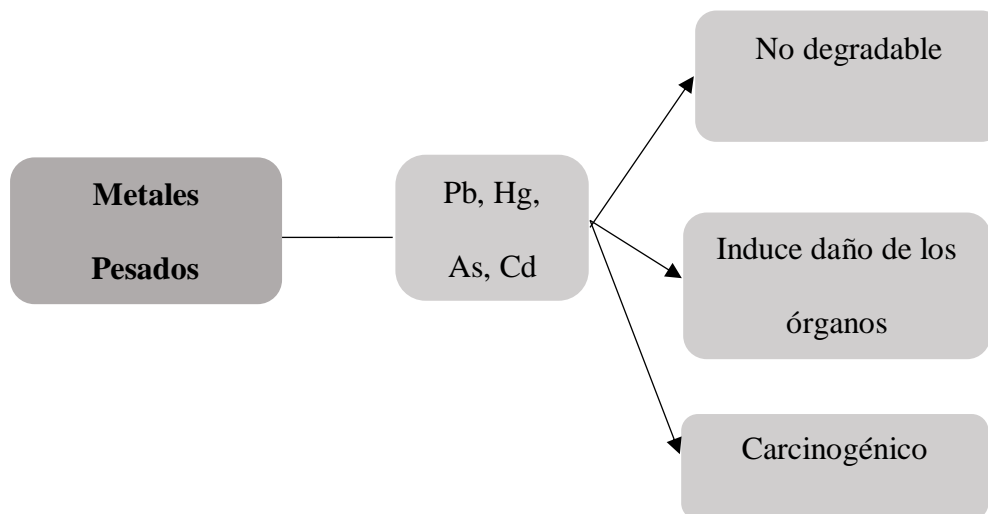
Todos los países en posesión de manglares experimentan pérdidas en la cubierta del manglar, algunas están deterioradas y como resultado de las actividades antropogénicas influye un cambio radical a nivel del ecosistema (Sudhir, Pullaiah, & Ashton, 2022).

El uso excesivo de las zonas costeras como la pesca artesanal, la acuicultura y la minería afectan la selva virgen del manglar (Cavalcanti, y otros, 2014).

La presencia de estos contaminantes se estima en un valor del 0,1 % (González, Martínez, Tirado, Wilches, & Celedón, 2015).

Los metaloides son identificados como micronutrientes los que se desconoce su utilidad en las funciones biológicas. Sin embargo, su presencia en el ambiente es nociva para los seres vivos, se menciona que metales traza (Fig. 3), distribuidas en pequeñas cantidades dan origen a repercusiones tóxicas.

Tabla 1 Metales pesados permanentes en el ambiente



Nota: Caracterización del impacto toxicológico de los metales pesados en la salud humana junto con métodos analíticos modernos.

Fuente: (Filipoiu, y otros, 2022).

2.2. Metales pesados

2.2.1. Definición y características nocivas para la salud

Se describe metaloides aquellos elementos que tienen una alta densidad (fig. 3), $\geq 3 \text{ g/cm}^3$, se los considera como oligoelementos con efectos de gran daño en las funciones biológicas dependiendo de que la concentración sea baja tiene una alta repercusión como efecto tóxico en el organismo (Banfalvi, 2011).

Figura 3 Distribución de los metales en la tabla periódica

1 H hidrógeno 1.00794																	18 He helio 4.0026																																																																
3 Li litio 6.941	4 Be berilio 9.01218											5 B boro 10.811	6 C carbono 12.0107	7 N nitrógeno 14.0067	8 O oxígeno 15.9994	9 F flúor 18.9984	10 Ne neón 20.1797																																																																
11 Na sodio 22.98976928	12 Mg magnesio 24.304											13 Al aluminio 26.9815386	14 Si silicio 28.0855	15 P fosforo 30.973762	16 S azufre 32.065	17 Cl cloro 35.453	18 Ar argón 39.948																																																																
19 K potasio 39.0983	20 Ca calcio 40.078	21 Sc escandio 44.955912	22 Ti titanio 47.867	23 V vanadio 50.9415	24 Cr cromo 51.9961	25 Mn manganeso 54.938	26 Fe hierro 55.845	27 Co cobalto 58.9332	28 Ni níquel 58.6934	29 Cu cobre 63.546	30 Zn zinc 65.409	31 Ga galio 69.723	32 Ge germanio 72.64	33 As arsénico 74.9216	34 Se selenio 78.96	35 Br bromo 79.904	36 Kr criptón 83.799																																																																
37 Rb rubidio 85.4678	38 Sr estroncio 87.62	39 Y itrio 88.90584	40 Zr zirconio 91.224	41 Nb niobio 92.90638	42 Mo molibdeno 95.96	43 Tc tecnecio 98.9062	44 Ru rutenio 101.07	45 Rh rodio 102.9055	46 Pd paladio 106.42	47 Ag plata 107.8682	48 Cd cadmio 112.411	49 In indio 114.818	50 Sn estaño 118.710	51 Sb antimonio 121.760	52 Te teluro 127.60	53 I yodo 126.905	54 Xe xenón 131.29																																																																
55 Cs cesio 132.905	56 Ba bario 137.327	71 Lu lutecio 174.967	72 Hf hafnio 178.49	73 Ta tantalio 180.948	74 W tungsteno 183.84	75 Re renio 186.207	76 Os osmio 190.23	77 Ir iridio 192.222	78 Pt platino 195.084	79 Au oro 196.967	80 Hg mercurio 200.59	81 Tl talio 204.38	82 Pb plomo 207.2	83 Bi bismuto 208.980	84 Po polonio (209)	85 At astato (210)	86 Rn radón (222)																																																																
87 Fr francio (223)	88 Ra radio (226)	103 Lr lawrencio (260)	104 Rf rutherfordio (261)	105 Db dubnio (262)	106 Sg seaborgio (263)	107 Bh bohrio (264)	108 Hs hassium (265)	109 Mt meitnerio (266)	110 Ds darmstadtio (271)	111 Rg roentgenio (272)	112 Cn copernicio (285)	113 Nh nihonio (286)	114 Fl flerovio (289)	115 Mc moscovio (288)	116 Lv livermorio (293)	117 Ts teneso (294)	118 Og oganesón (294)																																																																
<table border="1"> <tr> <td colspan="10">Lanthanides</td> <td colspan="8"></td> </tr> <tr> <td>57 La lantano 138.905</td> <td>58 Ce cerio 140.116</td> <td>59 Pr praseodimio 140.908</td> <td>60 Nd neodimio 144.242</td> <td>61 Pm prometio (145)</td> <td>62 Sm samario 150.36</td> <td>63 Eu europio 151.964</td> <td>64 Gd gadolinio 157.25</td> <td>65 Tb terbio 158.925</td> <td>66 Dy dysprosio 162.500</td> <td>67 Ho holmio 164.930</td> <td>68 Er erbio 167.259</td> <td>69 Tm tulio 168.934</td> <td>70 Yb ytterbio 173.054</td> </tr> <tr> <td colspan="10">Actinides</td> <td colspan="8"></td> </tr> <tr> <td>89 Ac actinio (227)</td> <td>90 Th torio 232.038</td> <td>91 Pa protactinio 231.036</td> <td>92 U uranio 238.029</td> <td>93 Np neptunio (237)</td> <td>94 Pu plutonio (244)</td> <td>95 Am americio (243)</td> <td>96 Cm curcio (247)</td> <td>97 Bk berkelio (247)</td> <td>98 Cf californio (251)</td> <td>99 Es eesbio (252)</td> <td>100 Fm fermio (257)</td> <td>101 Md mendelivio (258)</td> <td>102 No nobelio (259)</td> </tr> </table>																		Lanthanides																		57 La lantano 138.905	58 Ce cerio 140.116	59 Pr praseodimio 140.908	60 Nd neodimio 144.242	61 Pm prometio (145)	62 Sm samario 150.36	63 Eu europio 151.964	64 Gd gadolinio 157.25	65 Tb terbio 158.925	66 Dy dysprosio 162.500	67 Ho holmio 164.930	68 Er erbio 167.259	69 Tm tulio 168.934	70 Yb ytterbio 173.054	Actinides																		89 Ac actinio (227)	90 Th torio 232.038	91 Pa protactinio 231.036	92 U uranio 238.029	93 Np neptunio (237)	94 Pu plutonio (244)	95 Am americio (243)	96 Cm curcio (247)	97 Bk berkelio (247)	98 Cf californio (251)	99 Es eesbio (252)	100 Fm fermio (257)	101 Md mendelivio (258)	102 No nobelio (259)
Lanthanides																																																																																	
57 La lantano 138.905	58 Ce cerio 140.116	59 Pr praseodimio 140.908	60 Nd neodimio 144.242	61 Pm prometio (145)	62 Sm samario 150.36	63 Eu europio 151.964	64 Gd gadolinio 157.25	65 Tb terbio 158.925	66 Dy dysprosio 162.500	67 Ho holmio 164.930	68 Er erbio 167.259	69 Tm tulio 168.934	70 Yb ytterbio 173.054																																																																				
Actinides																																																																																	
89 Ac actinio (227)	90 Th torio 232.038	91 Pa protactinio 231.036	92 U uranio 238.029	93 Np neptunio (237)	94 Pu plutonio (244)	95 Am americio (243)	96 Cm curcio (247)	97 Bk berkelio (247)	98 Cf californio (251)	99 Es eesbio (252)	100 Fm fermio (257)	101 Md mendelivio (258)	102 No nobelio (259)																																																																				

Nota: Posición numérica clasificada en la tabla periódica.

Fuente: (Mohammad, Imran, Khan, & Osman, 2021).

2.2.2. Cadmio

Este elemento se acumula en los seres humanos, posee una media biológica entre 17 y 30 años (Ghizal, Raza, Najah, Nitu, & Abbas, 2019). Los efectos más comunes son vómito, diarrea esto dependerá de la cantidad que ingresa al organismo, tiempo de exposición y la reacción del cuerpo (Departamento de Salud Gobierno del Estado de Victoria, 2012).

El primer órgano que llega al ser absorbido en el torrente sanguíneo gastrointestinal es el hígado (Godt, y otros, 2006). Los órganos sensibles al efecto del metal pesado son el hígado y los riñones en función que tienen la capacidad de sintetizar proteínas de bajo peso molecular como las metalotioneínas (Flores, y otros, 2013). Además, con el tiempo provoca fibrosis periportal, hiperplasia biliar, daño endotelial (Athar, 1995).

2.2.3. *Plomo*

Un efecto general de este metal es que aumenta los niveles enzimáticos en la sangre disminuye la síntesis de proteínas en la sangre al tiempo que disminuye la síntesis de proteínas (Rafique, Nazir, & Gillani, 2021).

También, afecta la actividad de algunas enzimas generando cambios estructurales, el estrés oxidativo es desencadenado por la acción del plomo por lo que cambia la composición de los ácidos grasos en las membranas (Charkiewicz & Backstrand, 2020). Causa una serie de efectos adversos en el organismo como el deterioro en el sistema nerviosos como el caso de trastornos neurológicos (Wang, Zhang, & Xu, 2020).

2.3. *Anadara tuberculosa*

2.3.1. *Definición*

Es una especie de molusco bivalvo que habita en aguas tropicales y subtropicales del océano, se encuentran enterradas en los bosques pantanosos del manglar (Coan, Valentich, & Bernard, 2000 ; Cantera & Cruz, 2011). Además, *A. tuberculosa* al estar distribuido a lo largo del mar, adapta algunos nombre en base al país de origen que este presente el recurso marino como en Colombia (Pinguá); Ecuador, Panamá, Costa Rica (Concha prieta); México (Pata de mula) (Red iNaturalist, 2023).

2.3.2. Taxonomía

Tabla 2 Descripción taxonómica de la especie *A. tuberculosa*

Taxonomía:	
Reino:	Animalia
Filo:	Mollusca
Clase	Bivalvia
Subclase	Autobranchia
Infraclasse	Pteriomorfia
Orden	Arcida
Superfamilia	Arcoidea
Familia	Arcidae
Género	<i>Anadara</i>
Especie	<i>Anadara tuberculosa</i>

Fuente: (Molluscabase, 2018).

2.3.3. Morfología

Esta especie se caracteriza por tener dos válvulas con forma oblicua de manera ovalada, en el que cada valva tiene 34-37 costillas radiales y un periostraco de color marrón oscuro, posee cerdas en medio de las costillas, el margen dorsal es angular (Santhanam, 2018).

Las medidas en base al tamaño de *Anadara. tuberculosa* la longitud varía entre 30 – 70mm, el diámetro 27 – 110mm (Instituto Público de Investigación de Acuicultura y Pesca de Ecuador, 2021).

2.3.4. *Fisiología*

La salinidad es un componente físico que causa afectación al metabolismo fisiológico de los moluscos (Jones, Jhonson, & Kelly, 2019). Todos los bivalvos se les identifica como osmoconformes, es decir, poseen poca capacidad para la regulación osmótica, por lo cual las células soportan la regulación del volumen mediante ordenación de las concentraciones intracelulares de aminoácidos libres (Gosling, 2015).

2.3.5. *Estadios*

Posee una longitud promedio de 20 mm en el primer año de vida, pero disminuyen su crecimiento al 50% en el segundo año de vida (Silva & Bonilla, 2001). La madurez sexual de estos moluscos oscila entre 23,2 y 26,2 mm de longitud total, contiene sexos separados y desarrollos externos (Campos, Fournier, & Soto, 1990).

2.3.6. *Capacidad de absorción metales pesados en *Anadara tuberculosa**

La mayoría de absorción en metales involucra la difusión pasiva de aquellos como complejos solubles, gradientes de descenso creados por absorción en la superficie y la unificación de los constituyentes de las células (Russell, 1985).

Los efectos que tienen los moluscos bivalvos ante la presencia de contaminantes varía en la edad, los bivalvos juveniles son más sensibles e influye en su etapa de crecimiento a diferencia de los bivalvos adultos que adquieren la capacidad de acumular contaminantes en sus tejidos (Vernberg, 1979).

2.3.7. Órganos

Manto: Tejido interno que se extiende desde el cuerpo principal, alberga las branquias, se encuentra entre estas láminas y la masa visceral (Biotech, 2014).

Branquias: Se sitúan en las hileras de la cavidad del manto utilizada como medio de alimentación y respiración, las partículas de los alimentos serán los cilios, que se usa para domar y separar el agua inhalada (Museo Americano , 2023).

Músculo aductor: Están unidos por un sistema de bisección estilo "charnela" que permite que los dientes de una válvula descansen en los alvéolos de la válvula opuesta, lo que proporciona una apertura para la alimentación y un cierre para proteger al organismo de los depredadores o daños en el océano profundo (García, 2015).

Pie: Se encuentra en la parte inferior del saco visceral y tiene una estructura reducida, la parte central de esta estructura tiene una glándula bisal, que separa una sustancia elástica y filamentosa llamada "biso" que permite que un individuo se adhiera al soporte (Zambrano, Ríos, Almache, Morales, & Ramos, 2018).

Glándula digestiva: Está situada en la parte anterior de la masa digestiva, se encargan de las funciones de digestión, asimilación y desintoxicación (Pereira, Soto, & Fernández, 2016).

Riñones: Ubicados cerca del corazón, drenan las sustancias nocivas de la sangre y el líquido pericárdico en la cavidad del manto mediante los uréteres.

Corazón: Está ubicado cerca del músculo aductor, en un saco translúcido denominado pericardio, posee dos aurículas de forma irregular (FAO, 2023).

Gónadas: Rodean el intestino, encontrándose en la masa visceral (Ubero, 2009).

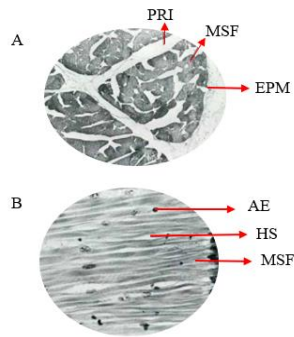
Recto: Se encuentra en el extremo posterior del músculo aductor (Aguirre, y otros, 2011).

2.3.8. *Histología*

La información proporcionada por el Atlas Histológico de Moluscos Bivalvos, desarrollado por el Departamento de Industrias Primarias de Queensland en colaboración con el Centro Australiano para la Investigación y el Desarrollo Agrícola, incluye una descripción de varias especies de bivalvos, sobre los órganos, las partes de tejido asociadas, señalización de los componentes intercelulares, entre otros (Norton & James, 1991); este análisis bibliográfico permitirá determinar la existencia de todos los componentes celulares en el músculo aductor, glándula digestiva, manto y pie.

Músculo aductor: Compuesto de una fibra muscular rodeada de tejido fibroso (Fig. 4), en la parte del interior celular se lo reconoce por contener pequeñas fibras musculares con forma ondulada (Smith & Rainbow, 2010).

Figura 4 Músculos aductores sanos

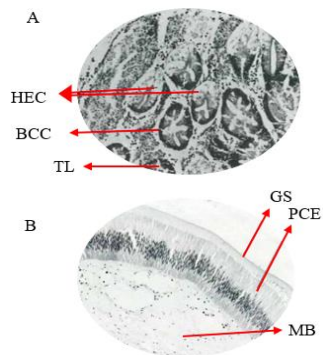


Nota: (A) Perimysio (PRI), fibras musculares (MSF), perimysio (EPM); (B), Epitelio adhesivo (AE), senos hemolinfa (HS), fibras musculares (MSF).

Fuente: (La Almeja Gigante un Atlas Anatómico e Histológico, Norton & James, 1991).

Glándula digestiva (Fig. 7) contiene tejido conectivo donde es conformado por algunos elementos de divertículos digestivos, tienden a encontrarse hebras pequeñas de fibras musculares (Usheva, Vaschenko, & Durkina, 2006).

Figura 5 Observación microscópica de la glándula digestiva sana

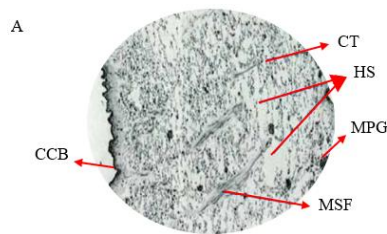


Nota: (A) Célula basífila (HEC), célula secretora holocrina (BCC), túbulos digestivos (TL); (B), Escudo gástrico (GS), epitelio columnar pseudoestratificado (PCE), base de mucopolisacárido.

Fuente: (Norton & James, 1991).

Manto: (Fig. 8) órgano tejido muscular y conectivo; en parte dentro su estructura está el epitelio columnar cubriendo al órgano en su totalidad, tienes células ciliadas, no ciliadas, elementos secretores de mucosa que aportan al crecimiento de la valva, en menor proporción tiene tejido conectivo (Zahab, Chagot, Blanc, & Grizel, 1992).

Figura 6 Visualización microscópica del manto sano

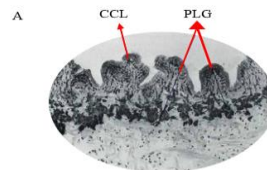


Nota: (A) Epitelio cuboidal (CT), Epitelio cuboidal ciliado (CCB), tejido conectivo (CT).

Fuente: (La Almeja Gigante un Atlas Anatómico e Histológico, Norton & James, 1991).

Pie (Fig. 9) posee gran cantidad de tejido conectivo y haces musculares donde se visualiza presencia de senos hemolinfáticos que rodean el surco bisal con una capa fina muscular longitudinal (Harshbarger, 1976).

Figura 7 Observación histológica del pie en estado sano



Nota: (A) Epitelio cuboidal (CCL), Glándula plantar (PLG).

Fuente: (La Almeja Gigante un Atlas Anatómico e Histológico, Norton & James, 1991).

2.3.9. Parámetros de lesiones

Infiltración hemocítica: Es la acumulación de células en el sistema inmunitario que ocasiona inflamación en el tejido, los organismos acuáticos ante la presencia de este tipo de lesión responden contra el ataque de agentes perjudiciales (Apeti, Lauenstein, Kim, & Warner, 2014).

Peroxidación lipídica: Surge por la aglomeración celulares como agregaciones de tipo lipofuscina de los cuales se consideran como gránulos en el tejido por lo que afecta de manera drástica al organismo (Géret, Jouan, Turpin, Bebianno, & Cosson, 2002).

Perdida de citoarquitectura: Es el cambio de la organización celular a través de la rotura o disgregación de partes de la célula que ocurre por una alteración del cual representan la pérdida de los componentes de los tejidos (Romero, 2020).

Inclusión citoplasmática: Es la representación de cualquier de sustancia inactiva presente dentro del citoplasma de una célula, tienden a formarse por la exposición continua de contaminantes (Sullivan, WuXZ, Colmillo, & Hanington, 2015).

2.4. CENAIM

2.4.1. Definición

En 1990, la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) construyó el CENAIM, un centro de investigación marina y acuícola con financiamiento del Gobierno de Japón es un componente esencial de la ESPOL con el objetivo de desarrollar sostenibilidad de la acuicultura y la biodiversidad marina en Ecuador mediante la investigación científica, el avance tecnológico, la formación y la difusión. Situado en San Pedro de Manglaralto, en la provincia de Santa Elena, se encuentra el CENAIM. Su infraestructura incluye laboratorios de análisis, salas de

experimentación, oficinas, sala de computadoras, biblioteca, áreas de enseñanza y recreación, así como habitaciones para técnicos y estudiantes.

La variedad es una planificación clave para el crecimiento de la acuicultura nacional, donde también han realizado investigaciones sobre la producción y cultivo de moluscos bivalvos y peces marinos, con el fin de conocer su genética y bienestar biológico (Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas, 2020).

2.5. Efectos relacionados a la acumulación de metales en organismos acuáticos

2.5.1. Bioacumulación en la fauna marina

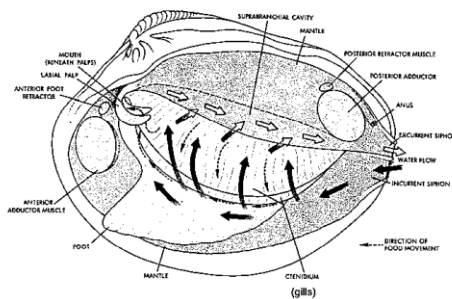
La acumulación de metales pesados induce al estrés oxidativo de los organismos acuáticos (Cock, y otros, 2021); en lo que afecta a las especies como los gasterópodos y pelecípodos (Naresh, Lakshmapurkar, Gavali, & Patel, 2017). La respuesta de los bivalvos tiene diferentes reacciones de acuerdo a su especie (Vijayavel, Gopalakrishnan, & Balasubramanian, 2007).

Los invertebrados marinos se exponen a los metales traza por medio de absorción de agua e ingestión de partículas en los sedimentos (Ojwang, y otros, 2016); al ser organismos bioacumuladores contienen un mecanismo de filtración (fig. 3), que consiste en que las partículas que ingiere se quedan atrapadas distintos lugares al ser transportadas por las branquias (Jorgensen, 2006; Periyadan, Krishnakumar, Mohammad, Qurban, & Sasikumar, 2018).

2.5.2. Mecanismos de filtración

Estas partículas las capturan los cilios branquiales luego se dirigen a los márgenes branquiales como se visualiza en la (Fig. 8), por último, los residuos restantes se arrastran por medio del moco a los palpos labiales y la boca (Ringwood, 2021).

Figura 8 Mecanismo de filtración



Nota: Esquema general del molusco bivalvo y partes asociadas al mecanismo de la filtración.

Fuente: (Spring, 2008).

En los moluscos bivalvos, la circulación que interviene en el mecanismo de filtración toma forma de U, el proceso de filtración comienza cuando el agua entra por la abertura posterior ventral (sifón inhalante) y sale por la abertura posterior dorsal (sifón exhalante) (Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria, 2022). *A. tuberculosa* filtra hasta 50 litros de agua por hora a una tasa de filtrado de 2,08 litros por hora (Fernández & Brunker, 1977).

2.6. Efectos adversos por toxicidad de metales traza en organismos acumuladores

Los gránulos se encuentran de manera intracelular en algunos organismos marinos, se estima que los gránulos son lisosomas terciarios asociados en gran parte a la lipofuscina, producto

resultante de la peroxidación lipídica (Awathy, Sharma, Gangadharan, & Pranav, 2022). Los componentes que contiene la lipofuscina son proteínas, lípidos, carbohidratos y contaminantes de metales traza, incluidos cadmio, zinc cromo, mercurio, entre otros, los cuales se distribuyen a lo largo de los tejidos (Phung & Marmier, 2014).

2.6.1. Adherencia en organismos filtradores a causa de metales

Se han evidenciado gránulos en ciertas especies de moluscos bivalvos, afirmando la variabilidad que tiene la presencia de los metales en los organismos filtradores, estos gránulos tienen un aproximado de 1- 2 μm de diámetro, se adhieren a las membranas y se las identifica por su estructura céntrica (Stanley, 2003).

Tabla 3 Presencia de agregaciones que contienen metales en algunos moluscos bivalvos

Moluscos	Composición	Órganos/ células	Características
<i>Crassostrea virginica</i>	Cd, Pb, Cr	Glándula digestiva	Edema hiperplasia en las células epiteliales en los túbulos digestivos, necrosis
<i>Pecten maximus</i>	Cd, Fe, K, Mn, Zn	Riñón	Gránulos de forma esferoidal

<i>Ostrea</i>	Cu, Zn	Manto,	Presencia de gránulos en
<i>edulis</i>		glándula	menor incidencia
		digestiva.	

Nota: Especies de moluscos bivalvos evidenciados con metales pesados.

Fuente: (Stanley, 2003).

2.7. *Técnicas de determinación de cadmio y plomo*

2.7.1. *Espectrometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente*

Este equipo fue desarrollado por Greenfield en 1974, junto a Reed quienes por primera vez trataron de implementar plasma acoplado; aunque su invento dio resultados en 1984 el cual se desarrollaron el primer equipo ICP-OES (Heinert, Grijalva, Ponce, & Solórzano, 2020).

El equipo se compone de dos elementos fundamentales, el primero es el plasma acoplado inductivo y el segundo un espectrofotómetro de emisión óptica (IQS , 2018).

Tiene seis componentes principales como el sistema de entrada para muestras de interés, el plasma acoplado inductivo, interfaz, visualización iónica, analizador y el detector (Wilschefski & Baxter, 2019)

Su función se produce un aerosol mediante la nebulización continua y la muestra líquida el cual es transportado por el gas ultrapuro de argón de modo que se dirige al plasma acoplándose por frecuencia y el gas de nitrógeno para despejar el plasma de un sitio determinado lo que permite que los analitos de interés se transformen en átomos por lo que genera una serie de refracción lo que registra datos por un detector sensible a la luz y los almacena en un software “Qtegra” (Lozano, 2022)

La capacidad analítica proporciona lecturas de alta sensibilidad, los rangos de lectura se realizan en parte por millón a través de su implementación genera alto rendimiento en las muestras analizadas (Sharma, 2020).

2.8. Normativa de salud establecida a nivel internacional

2.8.1. Reglamento de la Unión Europea N° 1881/2006

La valoración máxima debe seguir una estricta participación de las buenas prácticas agrícolas, pesqueras y de producción tomando como punto de partida los posibles efectos que se inducen, el riesgo asociado al consumo del alimento, en vista que tiende a causar problemas cancerígenos por su exceso de contenido (Comisión Europea, 2006). A continuación, en esta tabla se muestra el límite permisible.

Tabla 4 Contenidos máximos de metales pesados

Producto alimenticio	Metal pesado	Contenidos máximos (mg/kg peso fresco)
Moluscos Bivalvos	Cadmio	1,0
	Plomo	1,5

Fuente: (Comisión Europea, 2006).

2.9. Límite de ingesta

2.9.1. Definición

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, emite advertencias para proteger a los ciudadanos de posibles riesgos graves en la salud asociados al consumo de mariscos contaminados y capturado en diferentes manglares (EPA, 2023).

El límite de ingesta se basa en la cantidad máxima de una sustancia perjudicial (cadmio y plomo) que una persona puede ingerir sin experimentar cualquier efecto adverso, esto aplica a todo tipo de alimento de consumo alimenticio (Rovira, y otros, 2012). Se toma en cuenta varios aspectos para validar el cálculo de la ingesta diaria a través de Ex (exposición del metal), Cx (concentración del metal), Cr (peso de la muestra), Bx (peso corporal del individuo) este cálculo se aplica con el fin de obtener el valor adecuado de consumo (EPA, 2000).

2.9.2. Riesgos a la salud humana

La toxicidad de los metales pesados tras su ingesta puede inhibir el sistema inmunitario, lo que implica un severo daño a las biomoléculas (lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, etc) e influye a formar alteraciones en la función celular que conducen a la apoptosis celular (Singh, Ahirwar, Tiwari, & Pathak, 2018). A nivel molecular, en los tejidos afecta drásticamente la funcionalidad celular impidiendo la proliferación y diferenciación, también, afecta los sistemas de reparación de DNA como la reparación por escisión de nucleótidos (NER), la reparación por escisión de bases (BER) y la reparación por desajuste (MMR) (Koedrith et al., 2011).

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. *Diseño experimental*

El tipo de investigación realizada es exploratorio descriptivo, que realiza un diseño experimental que considera un muestreo aleatorio del molusco bivalvo *Anadara tuberculosa* en 11 mercados municipales del Sur de la ciudad de Guayaquil para determinar de manera cuantitativa por duplicado las concentraciones de cadmio, plomo y de forma cualitativa establecer el daño histológico en ciertos tejidos.

3.2. *Población y muestra*

Una muestra representativa de 22 muestras de conchas prietas en total de los mercados municipales.

3.3. *Variables*

Nuestro estudio tiene como variables dependientes la concentración de los metales y el porcentaje de daño histológico. La variable independiente es la muestra biológica *Anadara tuberculosa* obtenida en los diferentes mercados del Sur de la ciudad de Guayaquil.

3.4. *Recolección y análisis de datos*

La recolección de datos de este proyecto depende del software Qtegra del equipo ICP-OES para almacenar y determinar las concentraciones de todas las muestras del molusco bivalvo obtenidas, de igual manera para generar cálculos porcentuales del daño histológico en hojas de

Excel y analizar desde el punto estadístico y gráfico la correlación de concentraciones de metales y el daño de tejidos en el programa IBM SPSS Statistics 21 y Minitab.

3.5. Protocolos

3.5.1. Procesamiento del material biológico

Se recolectó conchas prietas (*Anadara tuberculosa*) en fundas ziploc de los mercados municipales del Sur de Guayaquil (Ver fig. 9) y (Tabla 5).

Tabla 5 Ubicación de cada mercado municipal para obtención de muestras (*Anadara tuberculosa*)

N° de muestreo	Mercados municipales	Coordenadas
1	Caraguay	-79,88727° O
2	Central	-79, 88731° O
3	Este	-79,88666° O
4	Minorista	-79, 93564° O
5	Gómez Rendón	-79,90229° O
6	Asiclo Garay	-79,90586° O
7	Guasmo Sur	-79,88066° O
8	Guasmo Norte	-79,87888° O
9	Isla Trinitaria	-79, 91948° O
10	Esclusas	-79, 89300° O
11	Grau Ruiz	-79, 93553° O

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

Figura 9 Clasificación de los mercados municipales del Sur de la Ciudad de Guayaquil.



Nota: Puntos de muestreo.

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

Las primeras muestras se trasladaron al laboratorio de instrumental y el producto de la segunda recolección se llevó a congelación de 4°C. Se secaron todas las muestras en la estufa Memmert modelo (UVSS) durante 40 minutos a 65°C para luego pulverizarlas y colocarlas en cada tubo de digestión.

3.5.2. Digestión ácida

Se pesó 0,5g de *A. tuberculosa* en una balanza analítica Entris (Sartorius), y cada muestra fue colocada en tubos de digestión junto con 10ml de ácido nítrico libre de metales con previo reposo de 15 minutos antes de la digestión. Este proceso se realizó en el equipo microondas digestor CEM (MARS 6) a 200°C durante 40 minutos (CEM, 2019).

La muestra obtenida de la digestión se manejó para filtración con precaución debido al exceso de gases producidos durante la digestión. El residuo filtrado se aforó a 50ml y se enrasó con ácido nítrico al 2%.

3.5.3. Medición de cadmio y plomo

Se realizó la determinación de Cadmio y Plomo a través del equipo Espectrofotómetro de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente, marca Thermo Scientific, modelo iCAP 7000 Series (versión 2.8.2944.202 - 64 Bit).

Para la curva de calibración se utilizó una solución mix (Cu, Cd, Pb y Zn) de concentración 0,05 – 0,125 ppm con los siguientes cálculos:

$$C1= 1000 \text{ ppm}/V1= 5\text{ml}$$

$$5000 \text{ ul}/\text{Stock}= 100\text{ppm}$$

$$V= 50 \text{ ml}$$

$$V1= \frac{0,1 \times 50}{100} = 0,05$$

La (Tabla 6) representa los volúmenes iniciales y finales al igual que las concentraciones 1 y 2 del estándar que se utiliza para la lectura de muestras en el equipo de espectrometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente.

Tabla 6 Curva de calibración

C1 (ppm)	C2 (ppm)	V1 (ul)	V2 (ml)
	0,1	50	
	0,5	250	

100	1	500	50
	2,5	1250	
	5	2500	
	10	5000	
	20	10000	

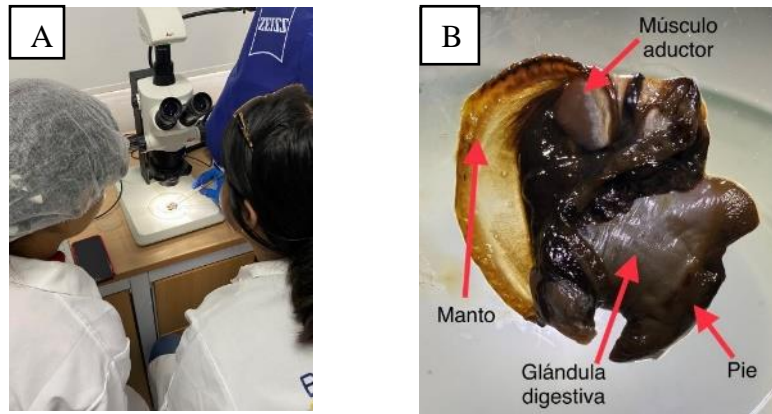
Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

Se prepararon también soluciones estándares de cadmio y plomo, utilizando la siguiente formula: $C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$

3.5.4. Procedimiento histológico

3.5.4.1. Determinación morfológica de órganos y estructuras de *A. tuberculosa*

Figura 10 Observación de anatomía de la concha



Nota: (A) Identificación de órganos en el estereoscopio, (B) Órganos de *A. tuberculosa*

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

3.5.4.2. *Estudio histológico del músculo aductor y glándula digestiva en Anadara tuberculosa*

Tenemos como referencia que los tejidos de moluscos jóvenes son más delicados que los de adultos por lo que fue necesario realizar un proceso de cortes minucioso. La preparación de las muestras consideró un proceso de fijación de menor tiempo para evitar que los tejidos se dañen. Adicional, se debe tomar en cuenta que, debido al tamaño, las condiciones para inclusión en parafina pueden variar (Bradley, 2019).

3.5.4.3. *Fijación*

Las muestras se colocaron en formalina al 40% durante 24 horas con el fin de que las células y componentes tisulares se mantengan estables para obtener secciones finas y de fácil tinción (Eltoum I, Fredenburgh J, 2001).

3.5.4.4. *Deshidratación*

Ubicamos las muestras en los cassette histológicos (plástico) a diferentes concentraciones de alcohol (80%, 95%, 100%) en determinados tiempos (ver tabla 7) para asegurar la eliminación del exceso de agua en las muestras y despigmentación en los tejidos. Por último, colocamos las muestras en Xilol para que haya transparencia en los tejidos (Gartner, 2001).

Tabla 7 Deshidratación para órganos de conchas

Reactivo	Tiempo
Alcohol 80%	1h

Alcohol 95%	2h
Alcohol 100%	2h
Alcohol 100%	2h
Alcohol 100%	2h
Xilol 1	1h
Xilol 2	2h

Nota: Concentraciones y tiempos para la deshidratación.

Fuente: Elaborado por los autores (2023).

3.5.4.5. *Inclusión (parafina)*

El órgano deshidratado se colocó en un cassette histológico con parafina diluida y se dejó en reposo durante 12 horas a 60°C en una estufa Memmert (UVSS).

3.5.4.6. *Cortes de tejidos parafinados*

Los cortes aproximados de 7 micras de diámetros fueron realizados en el equipo micrótopo Myr (M-240).

3.5.4.7. *Desparafinización*

Se procedió a diluir la parafina con la ayuda de agua caliente a 60° C con el objetivo de adherir la muestra en la placa porta objetos (Anatomía Patológica y Citodiagnóstico, D., 2018).

3.5.4.8. Tinción

Es cuando una contextura celular obtiene un color, ver (Tabla 8). Este proceso se realiza cuando los tejidos son incoloros con la finalidad de teñirlos para identificar sus particularidades morfológicas (Anderson, J. & Rolls, G., 2023).

Cálculos de las concentraciones de alcohol al 96% y 70%

Se diluyó 480ml de ETOH absoluto en una caja de tinción de 500ml rebajado con 20ml de agua destilada. Para la concentración de alcohol al 70% se diluye 350ml de ETOH absoluto en una caja de tinción de 500ml rebajado con 150ml de agua destilada. Luego para la hematoxilina se utilizó 0,1ml al igual para eosina y se enraza con 100ml de agua destilada.

Tabla 8 Tinción para tejidos de moluscos bivalvos

Reactivo	Tiempo
Xilol 1	5 min
Xilol 2	5 min
Alcohol 100%	5 min
Alcohol 100%	5 min
Alcohol 96%	5 min
Alcohol 96%	5 min
Alcohol 70%	5 min
Agua destilada	3 min
Hematoxilina	5 min
Agua potable	20 seg
Eosina	2 min
Alcohol 96%	5 min

Alcohol 96%	5 min
Alcohol 100%	5 min
Alcohol 100%	5 min
Xilol 1	50 seg
Xilol 2	50 seg

Nota: Concentraciones y tiempos para tinción.

Fuente: Anderson. (2023).

Metodología estandarizada para órganos jóvenes

Esta metodología es estandarizada debido a que los tejidos de 10 meses del Cenaim son muy débiles, lo que no resistió muchas concentraciones de los reactivos por se decidió disminuir los tiempos, visualizar (Tabla 9).

Tabla 9 Tinción estandarizada.

Reactivo	Tiempo
Xilol 1	1 min
Agua destilada	1 min
Hematoxilina pura	1 min
Agua potable	10 seg
Eosina pura	1 min
Alcohol 96%	1 min
Xilol 1	10 seg

Nota: Tiempos disminuidos para tejidos jóvenes.

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

Interpretación de imágenes obtenidas en el proceso histológicos

Para establecer un valor cuantitativo del daño visualizado se estableció un análisis basado en la frecuencia de lesiones aplicando la fórmula utilizada por la investigación (Lavalle, 2018) que nos permite obtener datos del porcentaje de lesión en grado según la intensidad del daño, adicional a esto, la información obtenida de (Reimschuessel, Bennett, & Lipsky, 1992) nos permite clasificar la lesión en nivel I, II, III y IV que equivalen a los términos escaso, leve, moderado y severo respectivos . Los valores de porcentaje en cada uno de estos niveles se representan con un valor de 25% que van en aumento a medida que sube el nivel de lesión.

3.5.5. Análisis estadístico

Metales cadmio y plomo

Para desarrollar la parte estadística en la concentración de metales cadmio y plomo se implementa el análisis estadística de ANOVA de una vía en el programa IBM SPSS21, en el que se utiliza las descripciones de las tablas de interés en donde se evidencia la diferencia en las muestras analizadas. Así mismo, para corroborar la similaridad del daño histológico causado por la presencia de cadmio y plomo se analiza un ANOVA pero de 2 vías por el cual se va a constatar el contraste.

Estadística de la ingesta diaria: Para el cálculo de los resultados se aplico la fórmula de la Protección ambiental de Estados Unidos (EPA, 2000). Con la fórmula:

$$Ex = \frac{Cx \times CR}{BW}$$

Donde:

Ex = Es la exposición ($\text{mgkg}^{-1}\text{d}^{-1}$)

Cx = Concentración de metal en la porción de la muestra ($\text{mgkg}^{-1}\text{d}^{-1}$)

CR = Es el peso medio del bivalvo (Kg)

BW = Es el peso corporal(Kg).

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la (Tabla 10 y fig. 11) se demuestran los resultados finales de concentraciones cadmio y plomo de muestras obtenidas de los 11 mercados municipales del Sur de Guayaquil.

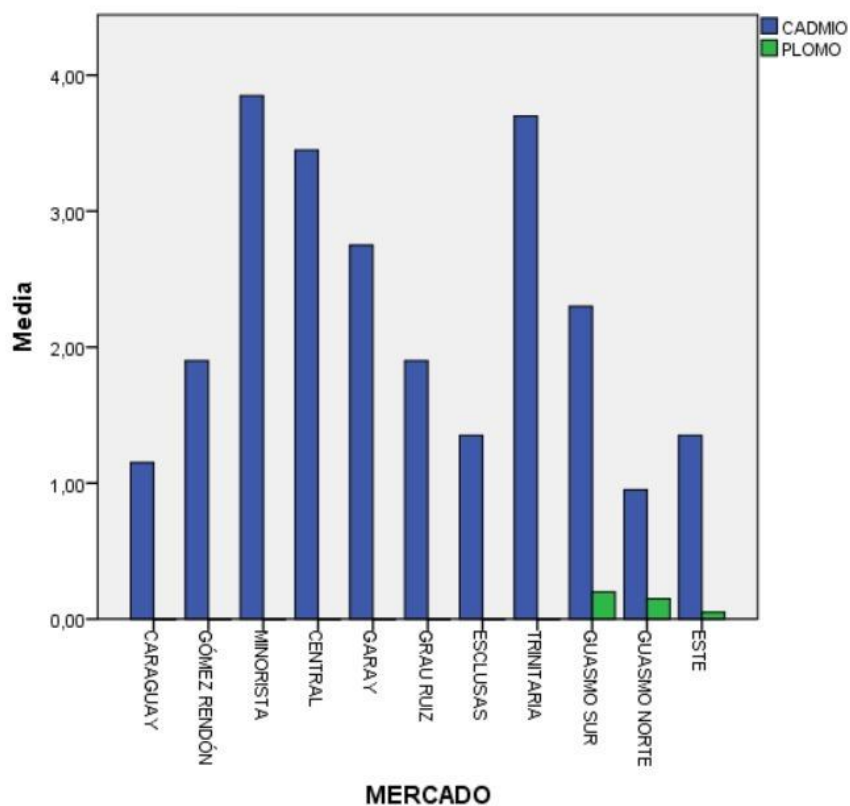
Tabla 10 Resultados finales de los mercados municipales del sur de Guayaquil.

Mercados Municipales	Medias Cadmio (ppm)	Medias Plomo (ppm)
Caraguay	1,15	0
G.Rendón	1,9	0
Minorista	3,85	0
Central	3,45	0
Garay	2,75	0
Grau Ruiz	1,9	0
Esclusas	1,35	0
Trinitaria	3,15	0
Guasmo Sur	2,3	0,15
Guasmo Norte	0,95	0,15
Este	1,35	0,05

Nota: Medias de todos los valores obtenidos del software Qtegra.

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

Figura 11 Análisis representativos de los 11 mercados municipales de cadmio y plomo



Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

Determinamos que en la mayoría de las muestras hay altas concentraciones en cadmio a diferencia de plomo que son bajas, por ende, se hace un cálculo previo con el factor de dilución 100ml donde el volumen final es de 50ml es dividido para el peso de muestra 0,5g para obtener límites finales de ppm (partes por millón).

(Fernández, 2022) hizo un estudio en los mercados municipales de Quito, donde evaluó las concentraciones de mercurio en la especie *Anadara tuberculosa*

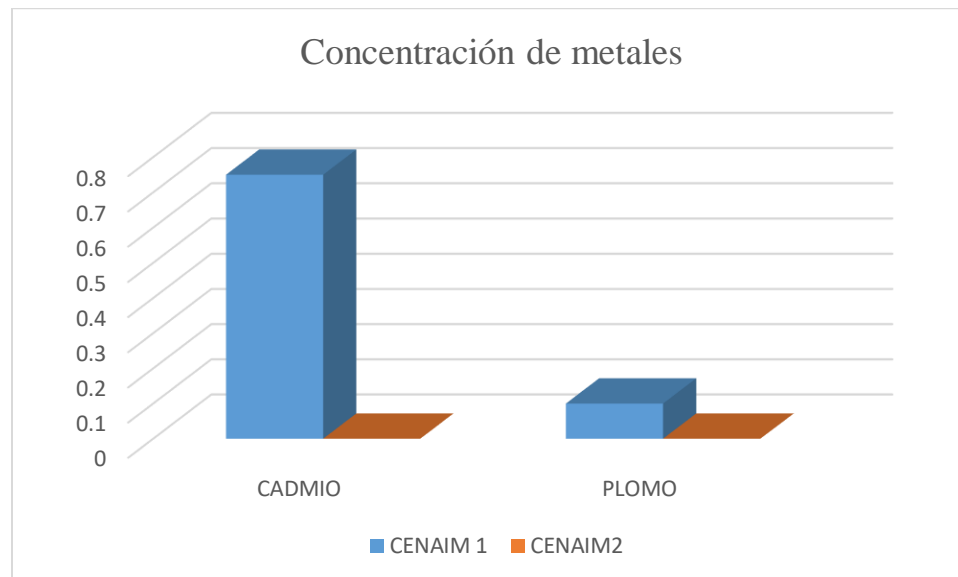
En representación a (tabla 11 y fig. 12) son los resultados de muestras de conchas prietas menos expuesta a cadmio y plomo, donde se obtuvieron rangos bajos en ambos metales.

Tabla 11 Resultados finales de concentraciones cadmio y plomo en muestras de Cenaim.

	Cadmio	Plomo
	(ppm)	(ppm)
CENAIM 1	0,75	0,1
CENAIM2	0	0

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

Figura 12 Concentración de metales



Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja, 2023.

Evaluación histológica en especie *Anadara tuberculosa* de los ejemplares recolectados de CENAIM

El análisis histológico de *Anadara tuberculosa* recolectadas del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones marinas, demostró que los órganos como músculo aductor, glándula digestiva, manto y pie presentan una estructura histológica normal. Para los tejidos analizados de manera microscópica se considera que el músculo aductor es poseedor de fibras musculares tipo estriadas, glándula digestiva y manto contienen tejido epitelial, el pie incluye tejido columnar ciliado y glándula bisal (Fig. 13).

Figura 13 Visualización microscópica de músculo aductor, glándula digestiva, manto y pie

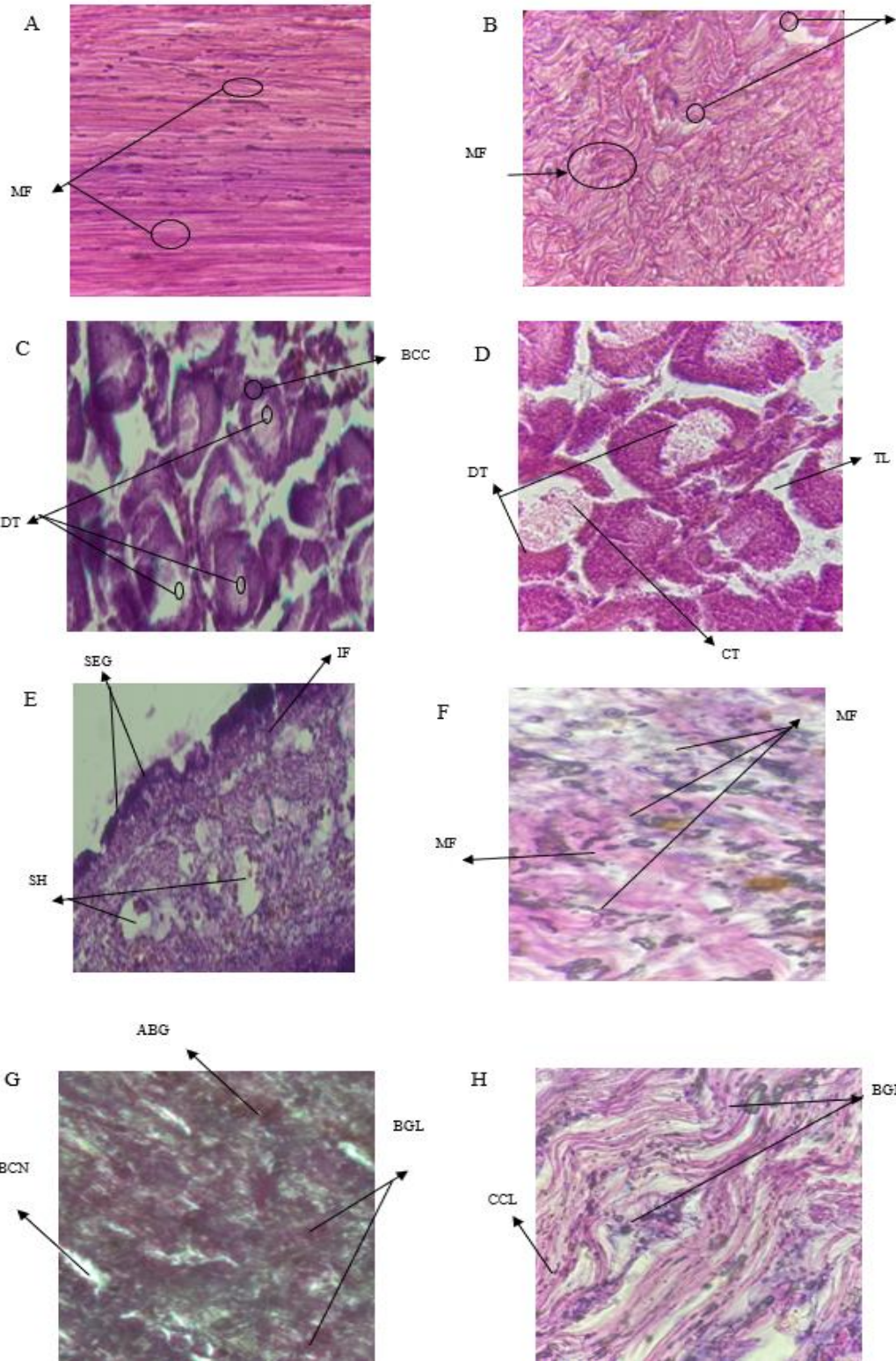


Fig. 12: (A)Músculo aductor: Sección longitudinal de las fibras musculares, 40 x; (B) Músculo aductor: Fibras estriadas musculares normales (FBME), senos hemolinfa (SH),100x; (C) Glándula digestiva: Célula basífila (BCC), túbulos digestivos (TL); (D) Glándula digestiva: túbulos digestivos (TL), luz tubular (TL), tejido conectivo (CT) 100x; (E) Manto: Sección lateral del borde bisal del manto, glándula subepitelial (SEG), pliegue interior (IF), senos hemolinfa (SH), tejido conectivo (CT) 40 x; (F)Manto: Fibras musculares (MF), senos hemolinfa (SH), 100x; (G) Pie: Canal bisal (BCN), glándula bisal (BGL), glándula bisal accesoria (ABG) ; (H) Glándula bisal (BGL), epitelio columnar ciliado (CCL),100x

Fuente: Elaborada por Arreaga & Loja (2023).

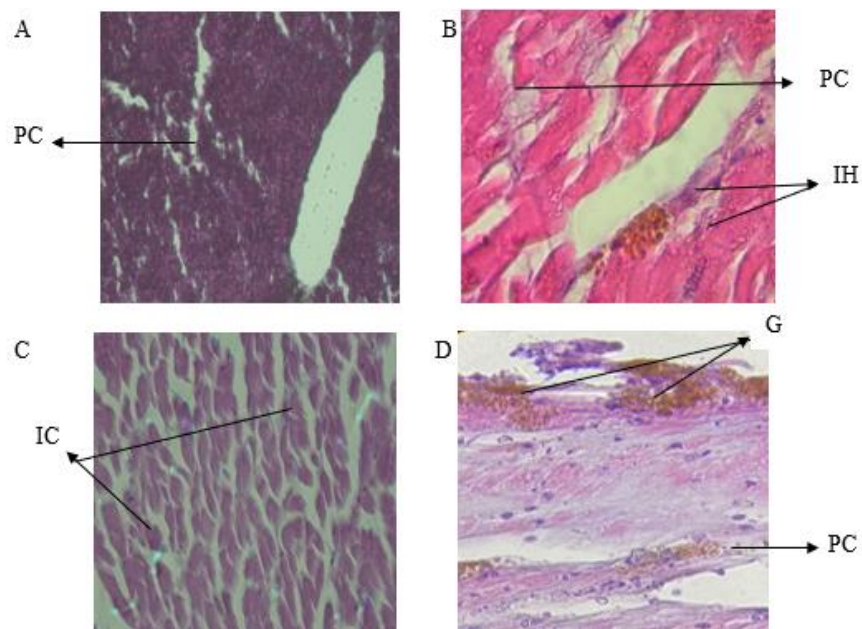
En la visualización se observa que las fibras musculares del músculo aductor contienen componentes de senos de hemolinfa, en glándula digestiva se describe los túbulos digestivos que rodean a todo el sistema digestivo, el manto se compone de algunas fibras musculares con características lisa y el pie conformado en parte por la glándula bisal.

(Humphrey, 2005) recolectan ejemplares de ostras en etapa de crecimiento del cual se analiza tejidos blandos como músculo aductor, glándula digestiva, manto, branquias se comprueba que no presentan algún tipo de alteración, demuestran descripciones de los tejidos asociados a los órganos mencionados con estructuras en estado sano las cuales sirven como referencia para determinar que no sucede cambio estructural.

Evaluación histológica del músculo aductor en especie *Anadara tuberculosa* de los ejemplares recolectados de los Mercados Municipales

Se puede comentar que las muestras obtenidas de los mercados Gómez Rendón, Garay, Grau Ruíz, Isla Trinitaria presentan alteraciones en el tejido del órgano musculo aductor, como se observa en la figura, que revelan a nivel microscópico daños relacionados a infiltración hemocítica grado I, gránulos en el tejido grado II, pérdida de citoarquitectura I e inclusión citoplasmática grado I, los mismos que se habrían definido en el apartado de marco teórico.

Figura 14 Visualización de alteraciones en músculo aductor



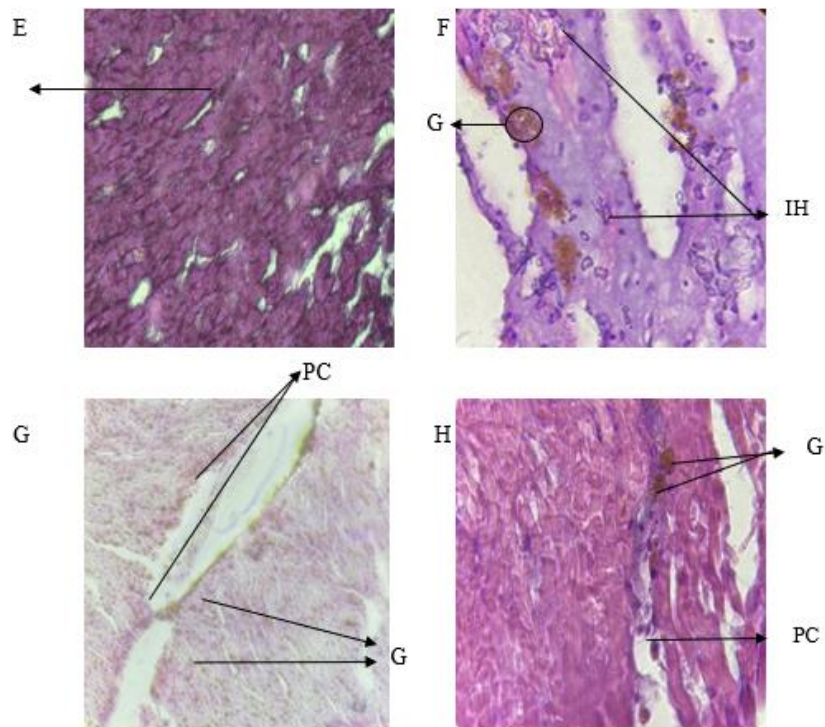


Fig. 13 : (A) Músculo aductor del mercado Gómez Rendón: Pérdida citoarquitectura (PC) grado II, 40 x; (B) Músculo aductor del mercado Gómez Rendón: Pérdida citoarquitectura (PC) grado II, infiltración hemocítica (IH) grado I 100X; (C) Músculo aductor del mercado Garay: Inclusiones citoplasmáticas (IC) grado II 40 X; (D) Músculo aductor del mercado Garay: Gránulos en el tejido grado II agregaciones de lipofuscina (G), pérdida citoarquitectura (PC) grado I, 100x; (E) Músculo aductor del mercado Grau Ruíz: Gránulos de tipo lipofuscina (G) grado I, 40x; (F) Músculo aductor del mercado Grau Ruíz: Gránulos en el tejido grado I agregaciones de lipofuscina (G), Infiltración hemocítica (IH) grado II leve entre los haces musculares, 100x; (G) Músculo aductor del mercado Isla Trinitaria: Pérdida citoarquitectura (PC) grado II, agregaciones de tipo lipofuscina (PC) grado II, 40x; (H) Músculo aductor del mercado Isla Trinitaria: Gránulos de tipo lipofuscina (G) grado II, pérdida citoarquitectura (PC) grado II, 100x

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja (2023).

De manera visual podemos determinar que hay una predominancia de daño en tejido relacionado a la pérdida de citoarquitectura, e infiltración hemocítica, al igual que la presencia de gránulos en el tejido de músculo aductor. (Lowe & Moore, 1978), caracterizan las lesiones del mejillón del músculo aductor con alta tasa de predominancia por parte de infiltración hemocítica que provoca un cambio drástico a las células. (Basova, y otros, 2017) justifica que la influencia ambiental es una de los tantos factores que inducen a la retención del tejido en bivalvos, en su estudio se distingue la incidencia de la formación de gránulos en el órgano del músculo aductor.

Un estudio histológico realizado por (Valera, Villegas, Mnachego, & LLanco, 2023) en la concha de abanico nos permite corroborar las lesiones antes mencionadas en este órgano. De forma cuantitativa con ayuda de fórmula de frecuencia mencionada antes en el presente documento podemos establecer el grado de lesión más evidente como se muestra en la tabla 12.

Tabla 12 Clasificación del grado de lesiones en músculo aductor

Grado de lesión	Normal	Escasa	Leve	Moderada	Severa	Total, de lesionadas	Porcentaje
Infiltración hemocítica	13/22	9	0	0	0	9/22	40%
Gránulos en los tejidos	6/22	6	10	0	0	16/22	72%
Pérdida de citoarquitectura	10/22	7	5	0	0	12/22	54%
Inclusiones citoplasmáticas	15/22	5	2	0	0	7/22	31%

Fuente: Elaborada por Arreaga & Loja (2023).

Se puede evidenciar el grado de lesión en porcentaje para cada una de las lesiones mencionadas, es así como para infiltración hemocítica grado de lesión escasa en valores de 40%, en gránulos se pudo determinar un grado de lesión leve con un valor de 72%, pérdida de citoarquitectura en grado escaso con 54%, para inclusiones citoplasmáticas en grado escaso en 31% de daño.

Figura 15 Evaluación histológica de la glándula digestiva en especie *Anadara tuberculosa* de los ejemplares recolectados de los Mercados Municipales.

El estudio histológico de la glándula digestiva demostró que las muestras de los mercados Gómez Rendón, Minorista, Isla Trinitaria presentan modificaciones tisulares (Fig. 13) que tienen mayor repercusión en sus tejidos con infiltración hemocítica grado I, II, gránulos en el tejido de grado I, II, III pérdida de citoarquitectura grado I, II, de forma adicional los datos registrados en la tabla 13 muestran los porcentajes de lesión en sus respectivos grados.

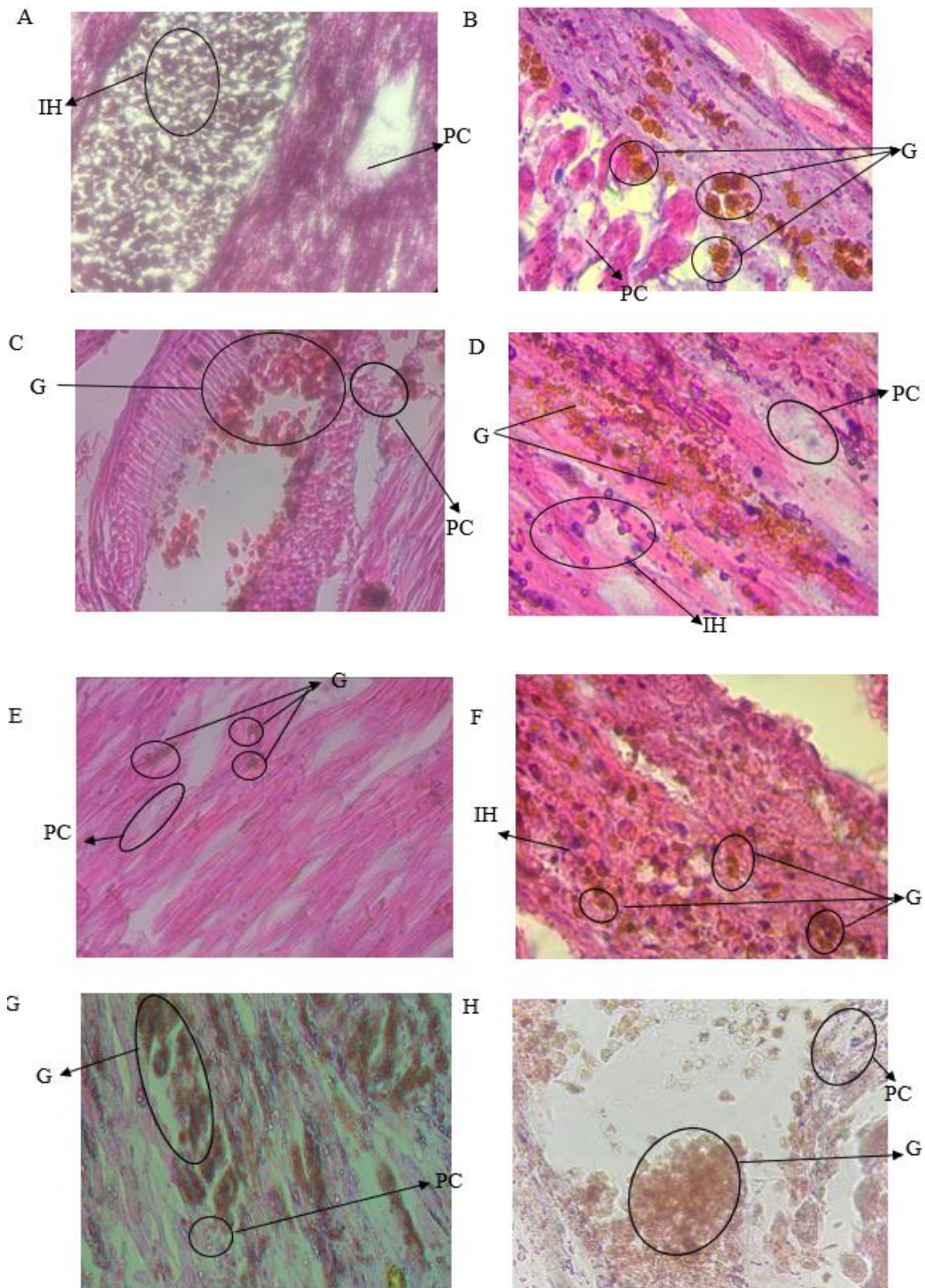


Fig. 15: (A) Glándula digestiva del mercado Gómez Rendón: Pérdida citoarquitectura (PC) grado I, Inflamación hemocítica (IH) grado I, 40 x; (B) Glándula digestiva del mercado Gómez

Rendón: Infiltración hemocítica (IH) grado I, pérdida citoarquitectura (PC) grado I 100X; (C) Glándula digestiva del mercado Minorista: Gránulos en los tejidos (G) grado II, pérdida citoarquitectura (PC) grado I, 40 X; (D) Glándula digestiva del mercado Minorista: Gránulos en el tejido grado III agregaciones de lipofuscina (G), pérdida citoarquitectura (PC) grado II, inflamación hemocítica (IH) grado II 100x; (E) Glándula digestiva del mercado Grau Ruíz: Gránulos de tipo lipofuscina (G) grado I, pérdida citoarquitectura (PC) grado I 40x; (F) Glándula digestiva del mercado Grau Ruíz: Gránulos en el tejido grado II agregaciones de lipofuscina (G), Infiltración hemocítica (IH) grado II, 100x; (G) Glándula digestiva del mercado Isla Trinitaria: Pérdida citoarquitectura (PC) grado I, agregaciones de tipo lipofuscina (PC) grado II, 40x; (H) Glándula digestiva del mercado Isla Trinitaria: Gránulos de tipo lipofuscina (G) grado III, pérdida citoarquitectura (PC) grado I, 100x.

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja, (2023).

De forma óptica se determina que existe mayor daño en tejido con relación a la formación de gránulos e infiltración hemocítica, en conjunto con la pérdida de citoarquitectura en los tejidos de la glándula digestiva.

(Shchebentovska, Blishch, Zaitsev, & Tybinka, 2020) menciona de la glándula digestiva es el órgano que se especializa en la retención de nutrientes, en la evaluación histológica que realizaron descubren que la formación de gránulos por causa de peroxidación.

(Win, 2013) en su hallazgo encuentran que las ostras analizadas cuentan con la presencia de infiltración hemocítica y se detecta alta incidencia en el órgano de la glándula digestiva con severo grado de lesión desencadena cambios en gran escala.

El cálculo de la frecuencia basado en el análisis microscópico (ver tabla 13) determinó lesiones en grado I para la mayoría de las muestras de glándula digestiva, pero se resalta la presencia de gránulos con altos porcentajes en grado II con un mínimo de muestras en grado III.

Tabla 13 Clasificación del grado de lesiones de la glándula digestiva

Grado de lesión	Normal	Escasa	Leve	Moderada	Severa	Total, de lesionadas	Porcentaje
Infiltración hemocítica	12/22	8	2	0	0	10/22	45%
Gránulos en los tejidos	4/22	9	7	2	0	18/22	81%
Pérdida de citoarquitectura	9/22	12	1	0	0	13/22	59%
Inclusiones citoplasmáticas	21/22	1	0	0	0	1/22	4%

Fuente: Elaborada por Arreaga & Loja (2023).

Se observa el grado de lesión en porcentaje para cada lesión evaluada en donde de manera visual se evidencia que existe mayor presencia de daño en el tejido que se relaciona a la formación de gránulos, pérdida de citoarquitectura e infiltración hemocítica en órganos de la glándula digestiva. En cuanto a la infiltración hemocítica se tiene grado I,II en 45%, en gránulos del tejido

en grado I, II, III presenta un valor de 81%, pérdida de citoarquitectura contiene grado I, II en 59% y en inclusión citoplasmática con proporción mínima de grado I en 4%.

(Javanshir, Poorbagher, & Eagderi, 2013) Cuenta sobre los efectos adversos producidos por el zinc en el órgano de la glándula digestiva, conocida también como hepatopáncreas, de la especie de mejillón de agua dulce y lo consideran como el órgano con mayor sensibilidad de presentar alteraciones por gránulos e infiltración hemocítica, como información adicional podemos comentar que en estudios realizados por (Palacios, 2008) en los tejidos de la glándula digestiva en ejemplares de mejillón verde expuestos a dosis letales de mercurio se puede evidenciar otras lesiones como la pérdida de tejido en los conductos digestivos.

Análisis general del daño a nivel del órgano y tejido en muestras de *Anadara tuberculosa*

Mediante un resumen general en la tabla y en la figura representadas a continuación podemos determinar los porcentajes de lesión en los órganos músculo aductor y glándula digestiva de la totalidad de las muestras.

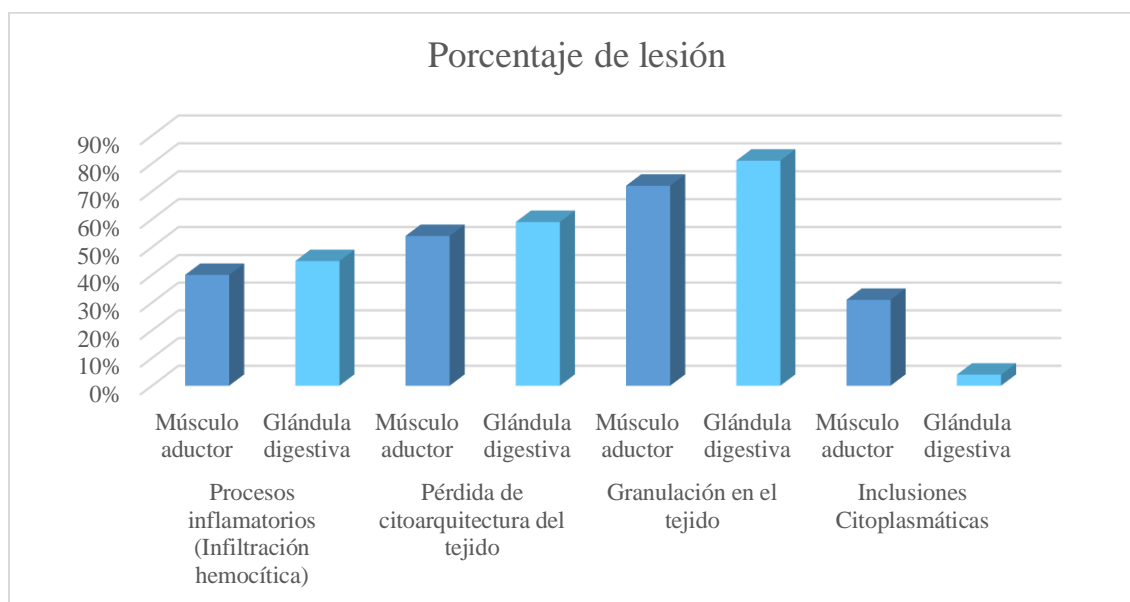
Tabla 14 Distribución generalizada del porcentaje

Tipos de lesión de tejidos	Órganos	Porcentaje de lesión
Procesos inflamatorios (Infiltración hemocítica)	Músculo aductor	40%
	Glándula digestiva	45%
Pérdida de citoarquitectura del tejido	Músculo aductor	54%
	Glándula digestiva	59%
Granulación en el tejido	Músculo aductor	72%
	Glándula digestiva	81%
Inclusiones Citoplasmáticas	Músculo aductor	31%
	Glándula digestiva	4%

Fuente: Elaborada por Arreaga & Loja (2023).

Se puede estimar que el porcentaje de lesión en los órganos estudiados glándula digestiva y en el músculo aductor presentan mayor incidencia en la formación de gránulos en tejidos, dato que puede coincidir con estudios de (Lohrmann, y otros, 2019), donde demuestran la incidencia de contaminantes en mejillón recolectados en sitios de contacto directo a lugares de producción acuícola y evidencian por microscopia de barrido estructuras de forma esférica similares a los gránulos de lipofuscina en el epitelio del túbulo digestivo, para complementar la información podemos citar la investigación de (Nam & Lee, 2011), comenta que la ostra en base al análisis del órgano de músculo aductor ocurre pérdida de fibras muscular y formación de gránulos alrededor del tejido muscular.

Figura 16 Visualización gráfica del porcentaje generalizado de las lesiones evaluadas

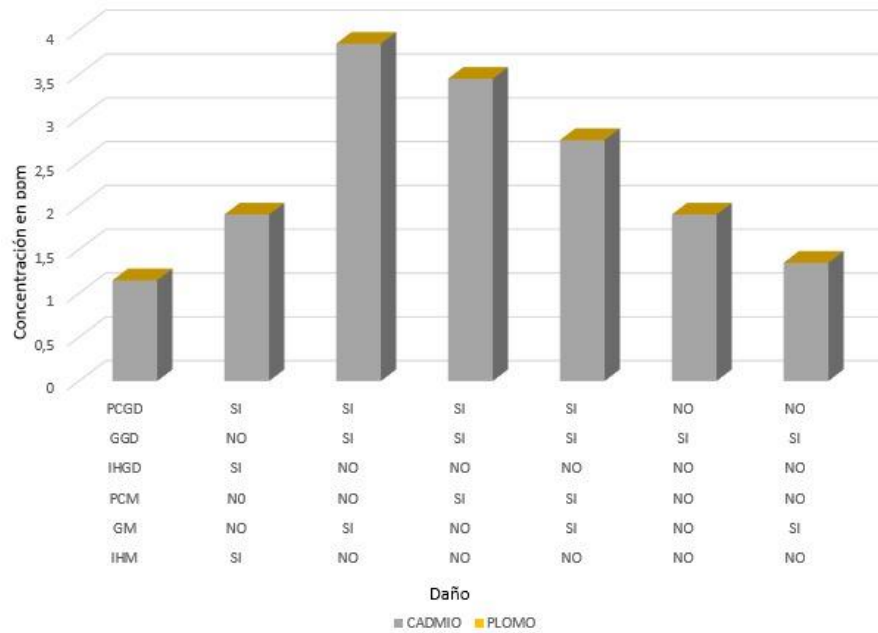


Fuente: Elaborada por Arreaga & Loja (2023)

La fig. 14 describe de manera generalizada los porcentajes obtenidos de la frecuencia de lesión en los diferentes órganos de las muestras de *Anadara tuberculosa*. Los gráficos de barras evidencian el número de estimación porcentual del músculo aductor y glándula digestiva ante los procesos inflamatorios o causas de estrés por contacto de agentes contaminantes que posibilita un riesgo de alteración de los tejidos.

Los resultados obtenidos son análogos a la investigación realizada por (Lavalle, 2018) que demostró el porcentaje de lesiones encontradas en concha de abanico y presenta efectos asociados a los procesos inflamatorios por infiltración hemocítica con valores del 60 % en el músculo aductor, 40 % en glándula digestiva, pérdida de citoarquitectura con 20% en los órganos musculares, 54% en la glándula digestiva.

Figura 17 Presencia y ausencia de daño a diferentes concentraciones de cadmio y plomo



Fuente: Elaborada por Arreaga & Loja (2023).

(Góngora, Domínguez, Villanueva, Muñoz, & García, 2018) revelan de manera significativa que los metales trazan cadmio y plomo encontrados en concha de pluma presentan daño en tejidos blandos y en las estructuras del músculo aductor lo que corrobora la (fig. 17), observan en donde a diferente concentración de cadmio se evidencia una predominancia de las lesiones tratadas en este estudio.

Límite de ingesta

Las concentraciones en ppm de las mediciones en cadmio y plomo evaluadas en los 11 mercados sirven como apoyo para la ejecución del cálculo del límite de ingesta diaria (tabla. 15), tomando como punto de referencia estos valores, se realiza un cálculo matemático del nivel de exposición, el riesgo potencial no cancerígeno y el consumo diario permitido.

Tabla 15 Valores obtenidos del límite de ingesta diaria.

Ingesta del consumo en especies de <i>Anadara tuberculosa</i>						
Mercados	Cadmio			Plomo		
	E	RX	CR_{lim}	EX	RX	CR_{lim}
Caraguay	0,000164	0,16	3,04	0	0	0
Gómez R.	0,000135	0,13	3,68	0	0	0
Minorista	0,000414	0,41	1,2	0	0	0
Central	0,000246	0,24	2,02	0	0	0
Garay	0,000196	0,19	2,54	0	0	0
Grau Ruíz	0,000414	0,41	1,2	0	0	0
Esclusas	0,000096	0,09	5,18	0	0	0
Trinitaria	0,000264	0,26	1,89	0	0	0
Guasmo S.	0,000171	0,17	2,91	0,003	0,00	140
Guasmo N.	0,000067	0,06	7,36	0,0015	0,00	280
Este	0,000096	0,09	5,18	0,001	0,01	420

Fuente: Elaborado por Arreaga & Loja, 2023

*Ex en representación de unidades ($mgkg^{-1}d^{-1}$)

*Rx no utiliza el sistema de unidades

* CR_{lim} unidad en (d^{-1})

En la tabla 15 se especifica los datos obtenidos en los 11 mercados municipales realizados a través del cálculo de la ingesta en referencia a la fórmula de la EPA, para los resultados del nivel de exposición en especie *Anadara tuberculosa* se toma en consideración el peso corporal de una persona adulta equivalente al consumo de 400 g para el bivalvo. Sin embargo, los valores resultantes indican que el nivel de exposición es bajo, de modo, que para la siguiente ecuación matemática del riesgo no cancerígeno (EPA, 2000) se establece que al ser los datos emitidos en nuestra investigación menores a 1 no se consideran un riesgo. El valor de la referencia de dosis (RFD) considerado por la (EPA, 2023), para cadmio es de 0,001 mg/kg/día y para plomo obtenido de la agencia del registro de enfermedades ocasionadas por efectos tóxicos (Tello, 2015) es de 0,006 mg/kg/día.

En la parte final del estudio se especifica a detalle el consumo diario CR_{lim} para *Anadara tuberculosa* que valora la concentración de cadmio como un riesgo posible a salud. Los valores de CR_{lim} más altos pertenece al mercado de Guasmo Norte con $7.18 \text{ mgkg}^{-1}d^{-1}$, al mercado de Esclusas el valor alcanza $5.18 \text{ mgkg}^{-1}d^{-1}$ y el mercado Gómez Rendón se evidencian $3.68 \text{ mgkg}^{-1}d^{-1}$.

Por el contrario, se comprueba que los valores del consumo diario permitido en base al reglamento de la Unión Europea 1881/ 2006 para el caso de cadmio tiene una estimación de 25% pues las cifras son mínimas debido al contenido de 1,0 mg/kg emitido por la EPA, considerándose son escasos al no superar el límite, pero se demuestra en la investigación que el molusco excede en

mínimo el consumo diario para cadmio. A diferencia de plomo que se encuentra superior en mercados de Guasmo Sur, Guasmo Norte y el Este con valores representativos de CR_{lim} de 140g, 280g, 420g superando el consumo de evaluación del riesgo en salud humana.

(Nasevilla, y otros, 2022) realizaron su investigación en base al consumo diario de dosis referencia en cual usaron como puntos de muestreo lugares de comercio municipal, por medio de este análisis se quiere comprender el contenido de mercurio total de especies de *Anadara tuberculosa* recolectados de algunos mercados de la Ciudad de Quito, presentan niveles en mínimo del límite permisible impartido por la FAO/OMS, aunque se comprueba que tiene riesgo potencial no cancerígeno del cual tienden a generar un riesgo en la ingesta.

(Romero, y otros, 2021) comprueban los riesgos de salud a través del límite de ingesta diaria en determinación de metales cadmio, plomo y cromo en donde encuentran que el cadmio excede los valores establecidos de la dosis de referencia, otro aspecto a notar es que el plomo se mantiene dentro de los límites permitidos, aunque se tiene que mayor cuidado con este metal traza pues una mínima concentración de la misma es letal en seres vivos.

Análisis de una vía en cadmio evaluadas en los parámetros de lesión

El estadístico se generó mediante ANOVA de una vía en la tabla está representada el factor en evaluar que corresponde al cadmio comparando con los parámetros de los grados de lesión el cual se incluye inflamación hemocítica, formación de gránulos y pérdida de citoarquitectura tanto en músculo aductor y glándula digestiva.

Figura 18 Analisis de ANOVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
IH	Inter-grupos	3,667	15	,244	,383	,024
	Intra-grupos	3,833	6	,639		
	Total	7,500	21			
GR	Inter-grupos	4,121	15	,275	1,236	,022
	Intra-grupos	1,333	6	,222		
	Total	5,455	21			
PC	Inter-grupos	3,652	15	,243	,398	,043
	Intra-grupos	3,667	6	,611		
	Total	7,318	21			
GDIH	Inter-grupos	4,288	15	,286	1,470	,033
	Intra-grupos	1,167	6	,194		
	Total	5,455	21			
GDGR	Inter-grupos	4,955	15	,330	3,964	,049
	Intra-grupos	,500	6	,083		
	Total	5,455	21			
GDPC	Inter-grupos	3,439	15	,229	1,032	,032
	Intra-grupos	1,333	6	,222		
	Total	4,773	21			

Fuente: Elaborada por las autoras (2023).

Los datos resultantes del análisis estadístico ANOVA de un factor nos permite la verificación de valores de significancia menores al 0.05, lo que permite rechazar la hipótesis nula relacionada a la presencia de daño en el tejido por alta concentración de metales cadmio y plomo en especies de *Anadara tuberculosa* recolectadas en los 11 mercados municipales del Sur de la Ciudad de Guayaquil y se acepta la hipótesis alternativa en la que concluimos que las concentraciones de metales puede influir en la aparición de daños en los tejidos.

Esta información lo puede corroborar (Arce, 2019) que menciona sobre el efecto de contaminación por metales traza, en donde la causa principal de daño en tejidos de organismos

acuáticos bioacumuladores son los agentes estresores de diversos tipos entre los que se mencionan los contaminantes químicos que pueden encontrarse en su entorno.

(Zeinab, Morvarid, Riyahi, & Hossein, 2014) en su investigación realizan una comparativa de la concentración de metales trazas tomando en cuenta los elementos a evaluar de zinc, cobre, plomo, cadmio y mercurio en estudio histológico en tejidos de la familia de moluscos *Arcidae* en el caparazón, en donde concluyen que para las muestras de cadmio y plomo tienen una mínima correlación entre los tejidos y metales a diferencia del caparazón, mencionan también que ambos se mantuvieron en el rango de la seguridad alimentaria el cual tomaron como indicadores en el desarrollo de su investigación y esperan que se mantenga un monitorio en este tipo de moluscos.

Por otra parte, (Fonseca, y otros, 2019) en base a la investigación del mejillón dorado el cual estudia la histología en músculo, branquias, glándula para tratarlo como posible bioindicador para los metaloides, por lo que afirman la presencia de mercurio y serviría como línea base para conocer la magnitud del riesgo de acumular metales pesados dentro de las células.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se concluye que los datos recolectados sobre la determinación de cadmio y plomo en los 11 mercados municipales del sur de la ciudad de Guayaquil son considerables para el metal cadmio en las muestras de los mercados Minorista, Gómez Rendón y trinitaria donde se evaluaron valores de 2,3 ppm. Información recabada en el momento del muestreo nos da a entender que estas muestras son distribuidas desde el puerto de San Lorenzo en la provincia de Esmeraldas.

La presencia de lesiones en músculo aductor como la infiltración hemocítica y pérdida de citoarquitectura en grados escasos se puede encontrar sobre el 50% en los mercados municipales: Gómez Rendón, Garay, Grau Ruiz e Isla Trinitaria. En contraste, en la glándula digestiva hay lesiones escasas y leves con valores que superan el 80% para la presencia gránulos en el tejido.

En base a los cálculos de ingesta diaria, se obtuvo en el mercado del guasmo Norte 420g, es decir, excede del límite permisible de la normativa que avala nuestro estudio.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda realizar proyectos futuros en otros organismos acuáticos para realizar análisis de otros metales pesados e identificar lesiones o enfermedades causadas por estos contaminantes químicos.

Es indispensable que estos resultados de estudio sirvan como un punto de referencia para el análisis de organismos bioacumulares en ambientes de manglares, para una mejor comprensión de la acumulación de metales pesados en los tejidos de organismos acuáticos. Lo que podría mejorar las prácticas de gestión en la acuicultura y la preservación de ecosistemas cruciales.

Se debe implementar otras técnicas analíticas en la evaluación de metales pesados para tener una mejor comprensión de las concentraciones en organismos alimenticios.

CAPÍTULO VI

6. Referencias bibliográficas

Toledo, S., & Darwin, J. (2016). *Determinación de metales pesados, arsénico, cadmio, y plomo en conchas prieta (Anadara tuberculosa), extraídos de la desembocadura del río Pital*. Universidad del Azuay.

Abel Díaz., “Diseño estadístico de experimentos” Editorial Universidad de Anqioquia. 2º Edición. 2009

Vogt D, Vogt T, Wolf B, Neuroth M, Otto M. Determinación directa de oxígeno orgánico e inorgánico en carbones del Programa Argonne Premium Sample mediante espectrometría de emisión óptica de plasma con acoplamiento inductivo de vaporización electrotérmica de muestreo sólido. *combustible* 2017; 196: 185-194. Doi: 10.1016 / j.fuel.2017.01.043

Us Epa, O. (2015). *SW-846 test method 6010D: Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES)*. <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-6010d-inductively-coupled-plasma-optical-emission-spectrometry-icp-oes>

CEM (2019) MARS 6 - Method note compendium

Eltoum I, Fredenburgh J, Myers RB, Grizzle WE. Introduction to the theory and practice of fixation of tissues. *J Histotechnol* 2001;24;173 -190.

Gartner. HISTOLOGIA, TEXTO Y ATLAS. Editorial McGraw Hill. México. 2001,pp. 1-3

Anatomía Patológica y Citodiagnóstico, D. (2018, March 13). *Ciclo Anatomia*. Ciclo Anatomia. <https://www.cicloanatomia.com/cesur-anatomia-tecnicas-histologicas/>

Anderson. (2023). *Histología*. <https://www.leicabiosystems.com/es/knowledge-pathway/an-introduction-to-routine-and-special-staining/>

Arce. (2019). Obtenido de <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/26315/1/arcepei2.pdf>

Fonseca, Wronski, Zuravski, Querol, Anjos, Ferreira, . . . Souza. (20 de 07 de 2019). Mejillón dorado (*Limnoperna Fortunei*) como bioindicador en ambientes acuáticos contaminados con mercurio: aspectos citotóxicos y genotóxicos. *Ciencia del medio ambiente total*, 675. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719316286>

Humphrey, N. (2005). Obtenido de <https://www.frdc.com.au/sites/default/files/products/1997-333-DLD.PDF>

Javanshir, Poorbagher, & Eagderi. (2013). Efectos histopatológicos del zinc (Zn) sobre el manto, la glándula digestiva y el pie del mejillón de agua dulce, *Anodonta cygnea* (Linea, 1876). *Internacional de Biología Acuática*, 1(2). Obtenido de <https://ij-aquaticbiology.com/index.php/ijab/article/view/27>

Lavalle. (2018). Obtenido de <https://core.ac.uk/reader/323353380>

Lohrmann, Bustos, Rojas, Navarrete, Robotham, & Bignell. (30 de 03 de 2019). Evaluación histopatológica del estado de salud de *Mytilus chilensis* (Hupé 1854) en el sur de Chile. *Acuicultura*, 503. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848618312092>

Nam, & Lee. (2011). Obtenido de <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/742963/>

Arce. (2019). Obtenido de <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/26315/1/arcepei2.pdf>

Fonseca, Wronski, Zuravski, Querol, Anjos, Ferreira, . . . Souza. (20 de 07 de 2019). Mejillón dorado (*Limnoperna Fortunei*) como bioindicador en ambientes acuáticos contaminados con mercurio:

- aspectos citotóxicos y genotóxicos. *Ciencia del medio ambiente total*, 675. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719316286>
- Humphrey, N. (2005). Obtenido de <https://www.frdc.com.au/sites/default/files/products/1997-333-DLD.PDF>
- Javanshir, Poorbagher, & Eagderi. (2013). Efectos histopatológicos del zinc (Zn) sobre el manto, la glándula digestiva y el pie del mejillón de agua dulce, *Anodonta cygnea* (Linea, 1876). *Internacional de Biología Acuática*, 1(2). Obtenido de <https://ij-aquaticbiology.com/index.php/ijab/article/view/27>
- Lavalle. (2018). Obtenido de <https://core.ac.uk/reader/323353380>
- Lohrmann, Bustos, Rojas, Navarrete, Robotham, & Bignell. (30 de 03 de 2019). Evaluación histopatológica del estado de salud de *Mytilus chilensis* (Hupé 1854) en el sur de Chile. *Acuicultura*, 503. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848618312092>
- Nam, & Lee. (2011). Obtenido de <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/742963/>
- Palacios. (2008). *HISTOPATOLOGÍA DE BRANQUIAS Y HEPATOPÁNCREAS DEL MEJILLÓN*. Obtenido de http://ri2.bib.udo.edu.ve:8080/bitstream/123456789/3020/2/TESIS_ZP.pdf
- Reimschuessel, Bennett, & Lipsky. (1992). Comunicaciones: un sistema de clasificación de lesiones histológicas. *Revista de salud de los animales acuáticos*. Obtenido de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1577/1548-8667%281992%29004%3C0135%3ACACSFH%3E2.3.CO%3B2>
- Subiai, Arltb, Frickers, James, Readmanc, & Stolpe. (2022). Fusionar la nanogenotoxicología con la ecogenotoxicología: un enfoque integrado para determinar los efectos genotóxicos interactivos y tóxicos subletales de los fullerenos C 60 y fluoranteno en mejillones marinos, *Mytilus* sp.

Arltb, Patricia E. Frickers c, James W. Readmanc, Björn Stolpe d,, 745(1). Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571811003858>

Valera, Villegas, Mnachego, & LLanco. (2023). Detección de microorganismos y caracterización de lesiones histopatológicas en la concha de abanico cultivada y silvestre (*Argopecten purpuratus*) en verano e invierno. *Investigaciones Veterinarias*, 34(2). Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172023000200028&script=sci_arttext

Zeinab, Morvarid, Riyahi, & Hossein. (2014). Evaluación comparativa de las concentraciones de metales (Zn, Cu, Pb, Cd y Hg) en tejidos blandos y caparazones de *Barbatia helblingii* (familia: Arcidae) de la isla de Qeshm (Golfo Pérsico) durante el invierno y la primavera. *Revista India de Ciencias Geomarinas*. Obtenido de <https://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/34505>

Acosta, & Lodeiros. (2004). Metales pesados en la almeja *Tivela mactroides* Nacida, 1778 (Bivalvia: Veneridae) procedente de localidades costeras con diferentes grados de contaminación en Venezuela. *Ciencias Marinas*. Obtenido de <https://cienciasmarinas.com.mx/index.php/cmarinas/article/view/183>

Romero, Langdon, Monsalve, Farinnago, Cobo, & Jácome. (2021). Panorama general del contenido de cadmio, cromo y plomo en los bivalvos consumidos por la comunidad de la isla Santa Rosa (Ecuador) y su evaluación de riesgos para la salud. *Toxicología, Contaminación y Medio Ambiente*, 8. Obtenido de <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2020.00134/full>

Basova, Strahl, Felipe, Brey, Sukhotin, & Abele. (2017). *ResearchGate*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/314865643_Lipofuscin_accumulation_in_tissues_of_Arctica_islandica_indicates_faster_ageing_in_populations_from_brackish_environments

Lowe, & Moore. (1978). Citología y citoquímica cuantitativa de una condición hemocítica atípica proliferativa en *Mytilus edulis* (Bivalvia, Mollusca). Obtenido de <https://academic.oup.com/jnci/article-abstract/60/6/1455/947827?login=false>

Shchebentovska, Blishch, Zaitsev, & Tybinka. (2020). *MORFOMETRIA DE LA GLÁNDULA DIGESTIVA*. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Andrii-Tybinka/publication/339650690_Morphometry_of_the_digestive_glands_of_terrestrial_mollusk_Cornu_aspersum_Gastropoda_Helicidae/links/5fabd99992851cf7dd0df557/Morphometry-of-the-digestive-glands-of-terrestrial-moll

Win. (2013). Obtenido de <https://repository.pknu.ac.kr:8443/handle/2021.oak/24658>

Góngora, Domínguez, Villanueva, Muñoz, & García. (2018). NIVELES ESTACIONALES DE METALES PESADOS EN TEJIDOS BLANDOS Y MÚSCULOS DE LA CONCHA DE LA PLUMA *Atrina maura* (SOWERBY, 1835) (BIVALVIA: PINNIDAE) DE UNA GRANJA EN LA COSTA SURESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO. *Revista internacional de contaminación ambiental*. Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992018000100057

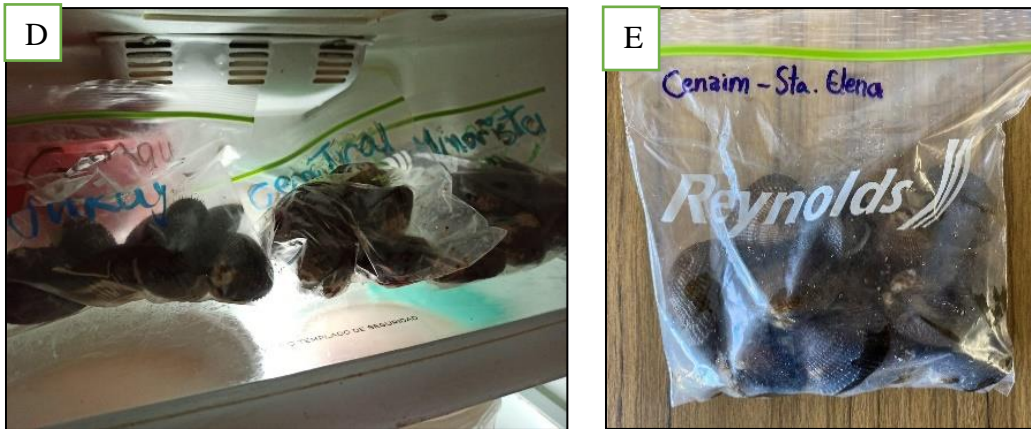
7. Anexos

Sitios de muestreo



Anexo 1. (A y B) Muestreo en 11 mercados municipales del Sur de Guayaquil, (C) Muestreo en CENAIM.

Recolección de muestras

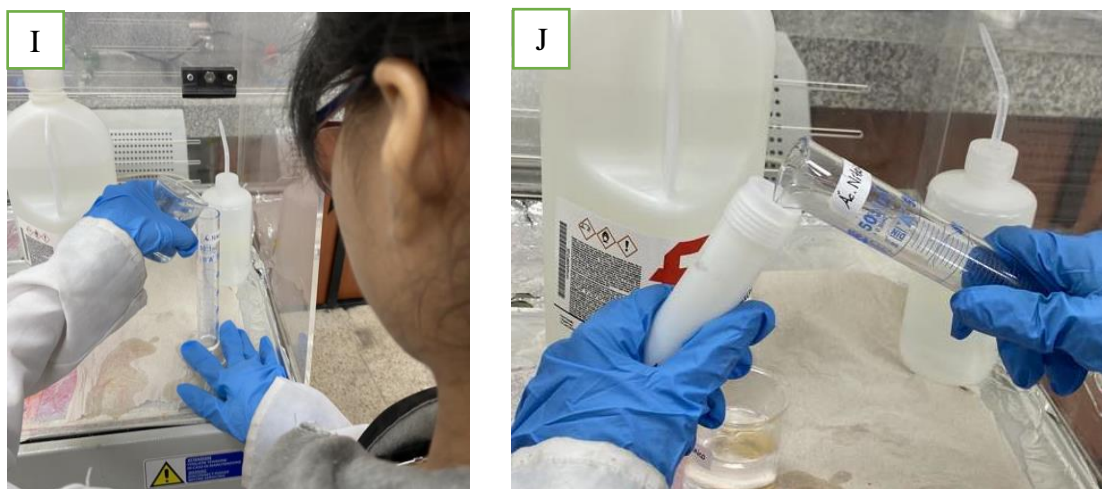


Anexo 2. (D) Muestras expuestas a metales pesados, (E) muestras menos expuestas a metales pesados.

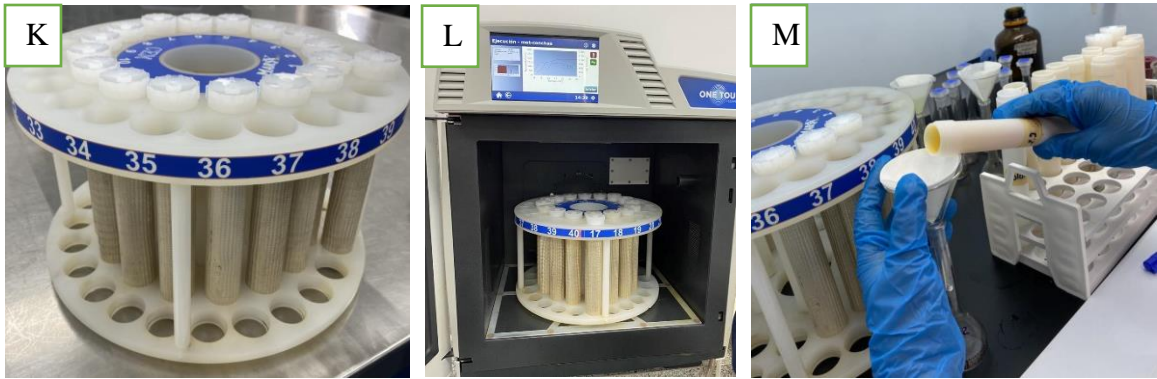
Determinación de metales pesados: Procedimiento



Anexo 3. (F) Limpieza del material biológico; (G) Secado de muestras; (H) Pesaje.



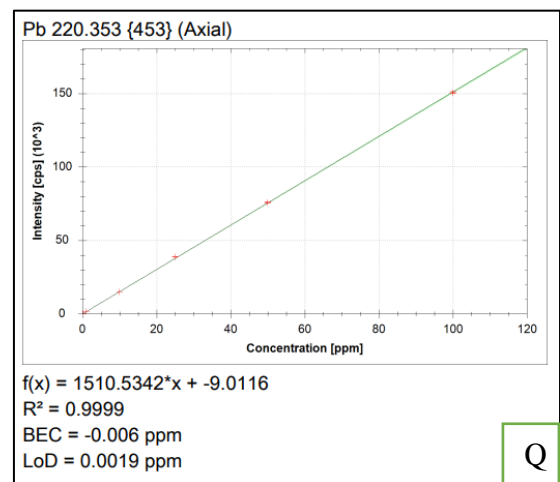
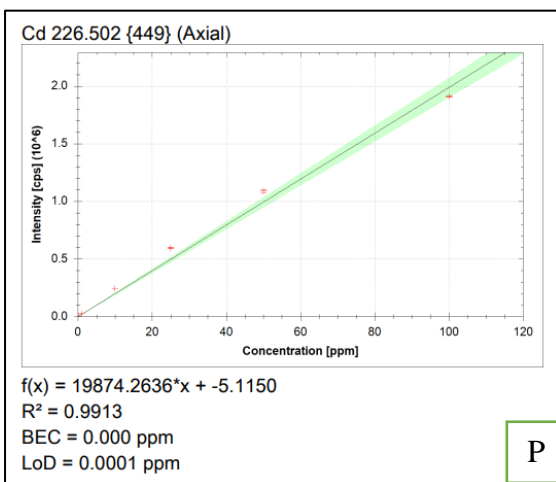
Anexo 4. (I) Medición de 10ml de ácido nítrico libre de metales; (J) Colocamos el HNO₃ en cada tubo de digestión.



Anexo 5. (K) Cerrar bien cada tubo; (L) Introducir la gradilla circular en el microondas digestor MARS6; (M) Filtración de muestras digeridas.



Anexo 6. (N) Muestras filtradas; (O) Preparación de la curva de calibración.



Anexo 7. (P, Q) Curva de calibración cadmio y plomo.

Mercados

	Cd 226.502 {449} (Axial)	Pb 220.353 {453} (Axial)
Concentration average	0.014 ppm	-0.001 ppm
Concentration per Run	0.014 ppm	-0.001 ppm
Concentration RSD	N/A	N/A

	Cd 226.502 {449} (Axial)	Pb 220.353 {453} (Axial)
Concentration average	0.015 ppm	0.001 ppm
Concentration per Run	0.015 ppm	0.001 ppm
Concentration RSD	N/A	N/A

	Cd 226.502 {449} (Axial)	Pb 220.353 {453} (Axial)
Concentration average	0.012 ppm	0.000 ppm
Concentration per Run	0.012 ppm	0.000 ppm
Concentration RSD	N/A	N/A

	Cd 226.502 {449} (Axial)	Pb 220.353 {453} (Axial)
Concentration average	0.009 ppm	0.000 ppm
Concentration per Run	0.009 ppm	0.000 ppm
Concentration RSD	N/A	N/A

Muestras Cenaim

	Cd 226.502 {449} (Axial)	Pb 220.353 {453} (Axial)
Concentration average	0.006 ppm	0.002 ppm
Concentration per Run	0.006 ppm	0.002 ppm
Concentration RSD	N/A	N/A

	Cd 226.502 {449} (Axial)	Pb 220.353 {453} (Axial)
Concentration average	0.007 ppm	0.002 ppm
Concentration per Run	0.007 ppm	0.002 ppm
Concentration RSD	N/A	N/A

Anexo 8. Resultados del software Qtegra de concentraciones cadmio y plomo.

**Resultados finales de muestras de Anadara tuberculosa obtenida en los 11 mercados
recolectada en el Sur de la ciudad de Guayaquil**

Mercados Municipales	Código de muestra	Concentración de Cadmio *(Axial) ppm	** x 100	Concentración de Plomo (Axial) ppm	x 100
-	Blanco	N/A	N/A	N/A	
Caraguay	1	0.000	0	-0.005	0
Caraguay	2	0.023	2,3	-0.001	0
Gómez Rendón	3	0.018	1,8	-0.001	0
Gómez Rendón	4	0.020	2	-0.003	0
Minorista	5	0.058	5,8	-0.001	0
Minorista	6	0.019	1,9	-0.002	0
Central	7	0.035	3,5	-0.005	0
Central	8	0.034	3,4	-0.002	0
Garay	9	0.029	2,9	-0.002	0
Garay	10	0.026	2,6	-0.002	0
Grau Ruiz	11	0.018	1,8	-0.001	0
Grau Ruiz	12	0.020	2	-0.001	0
Esclusas	13	0.018	1,8	-0.002	0
Esclusas	14	0.009	0,9	-0.001	0
Isla Trinitaria	15	0.021	2,1	-0.002	0
Isla Trinitaria	16	0.053	5,3	-0.001	0
Guasmo Sur	17	0.034	3,4	0.003	0,3
Guasmo Sur	18	0.014	1,4	-0.001	0
Guasmo Norte	19	0.012	1,2	0.001	0,1
Guasmo Norte	20	0.007	0,7	0.002	0,2

Este	21	0.012	1,2	0.000	0
Este	22	0.015	1,5	0.001	0,1

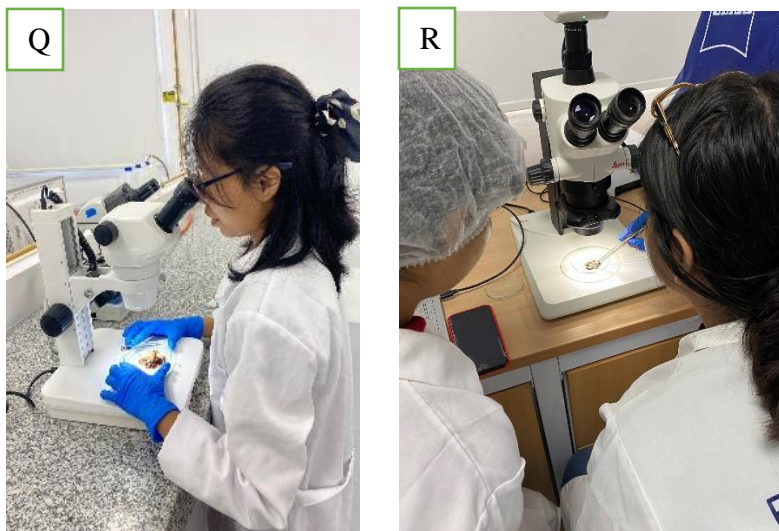
Anexo 9. Resultados obtenidos de Qtegra.

Resultados finales de las muestras de Cenaim

Muestras	Código de muestras	Concentración de Cadmio *(Axial) ppm	** x 100	Concentración de Plomo (Axial) ppm	x 100
Cenaim	M1	0.006	0,6	0.002	0,2
Cenaim	M2	0.009	0,9	0.000	0
Cenaim	M3	0.004	0,4	0.000	0
Cenaim	M4	0.000	0	0.001	0,1

Anexo 10. Resultados obtenidos de Qtegra.

Histología



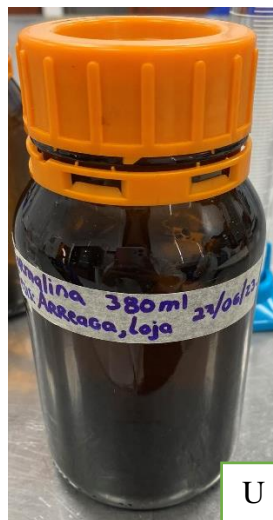
Anexo 11. (Q, R) Identificación de órganos en concha prieta.

Cortes de órganos



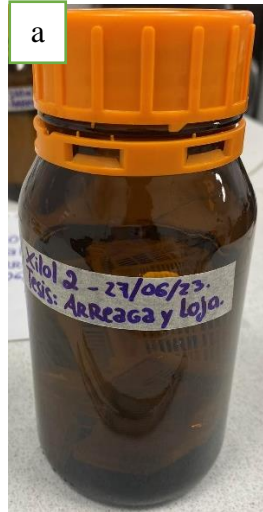
Anexo 12. (S) Órganos cortados músculo aductor y glándula digestiva; (T) Conservación de órganos en cassette histológicos.

Fijación



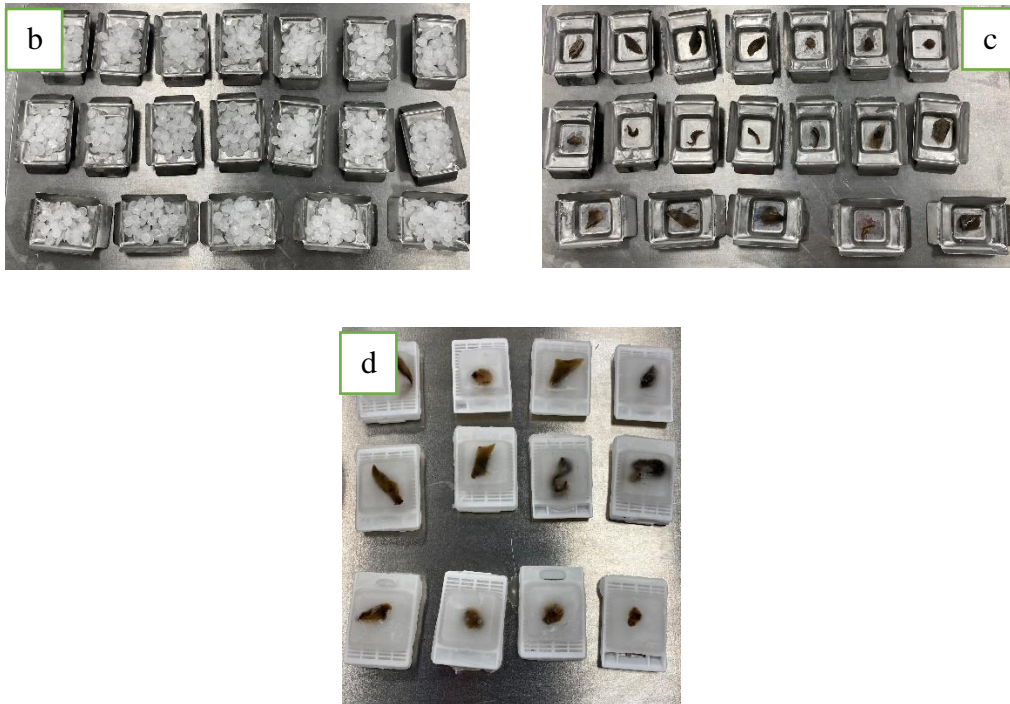
Anexo 13. (U) Órganos en formalina durante 24 horas.

Deshidratación



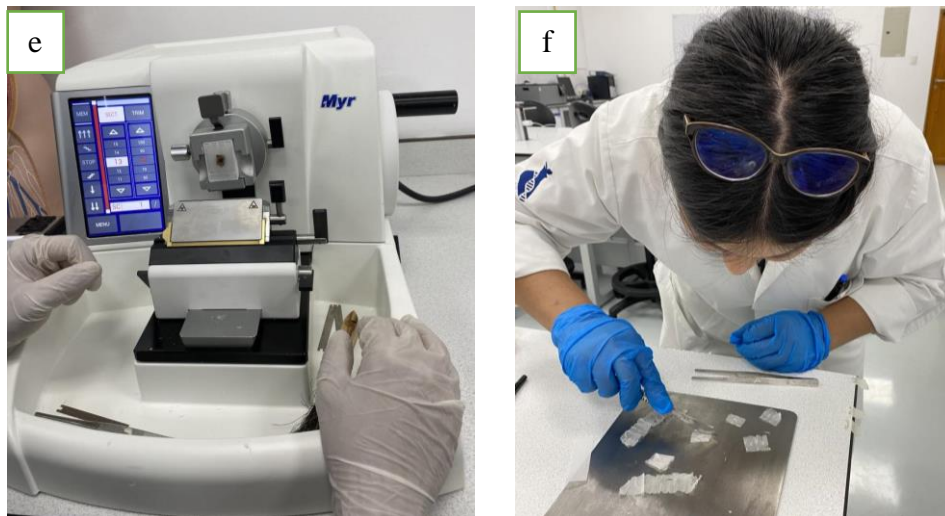
Anexo 14. (V) Dejamos reposar las muestras en alcohol al 80% y 95%; (W, X, Y) Se deja reposar en alcohol a concentraciones de 100% durante 2 horas; (Z, a) Dejamos reposar en Xilol 1 y sustituto de Xilol durante 2 horas.

Inclusión en parafina

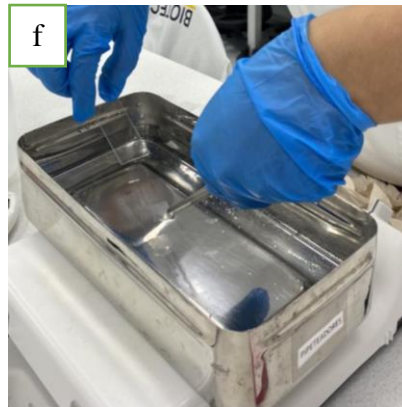


Anexo 15. (b) Muestras con parafina sólida; (c) muestras con parafina líquida; (d) moldes histológicos.

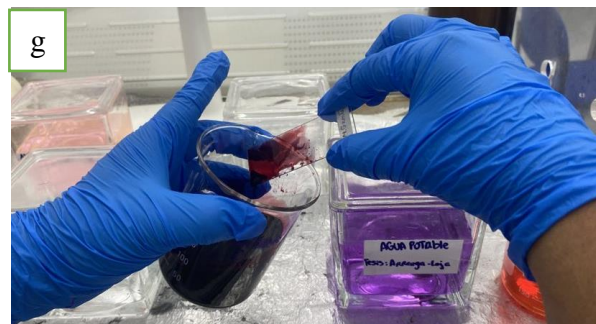
Cortes histológicos



Anexo 16. (e) cortes en el microtomo; (f) cortes de cada tejido en lamina de parafina.



Anexo 17. (f) desparafinización para obtener muestra en porta objetos.

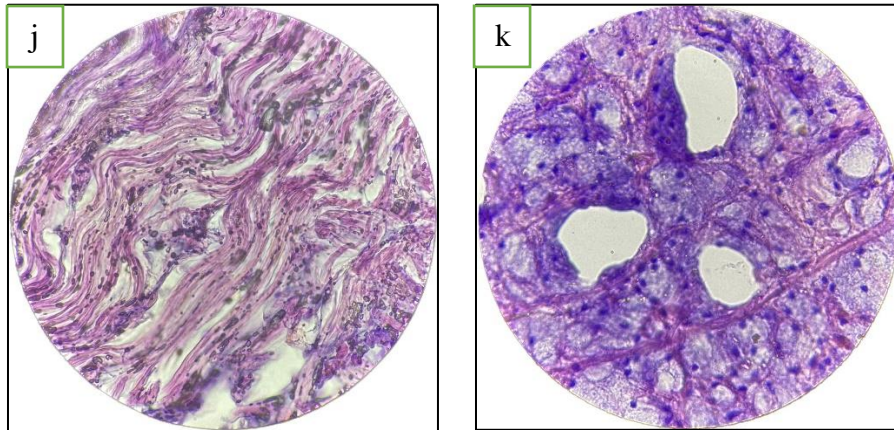


Anexo 18. (g) tinción.



Anexo 19. (h, i) Observación microscópica.

Resultados de microscopía



Anexo 20. (j) tejido sano; (k) tejido con lesiones.

Adicional: Morfología de conchas prietas



Anexo 21. (l) Diferencia entre conchas de cenaim y de mercados municipales; (m,n) Anchura y longitud de concha prieta.