

INDICADORES FISIOLÓGICOS EN LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS

MARINA VARGAS¹

Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

MANUEL CORREA

INTEVEP, S.A. Gerencia General de Investigaciones Ecológicas y Ambientales Sección de Ecología e Impactos Ecológicos, Los Teques, Edo. Miranda, Venezuela.

&

K. S. CHUNG

Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

RESUMEN: Como parte de un programa para estudiar el impacto de hidrocarburos aromáticos en especies marinas tropicales, se presentan los resultados de un trabajo comparativo sobre los efectos del benceno y naftaleno en la lisa *Mugil curema* y el corocoro *Orthopristis ruber*, dos especies de gran importancia comercial en las costas venezolanas. Para ello, la toxicidad letal y subletal fueron medidas a través de cambios en las actividades respiratorias (consumo de oxígeno) y excretorias (excreción de amonio) para establecer la relación o índice (O:N) capaz de permitir medir las alteraciones producidas por estos xenobióticos sobre la fisiología de estas especies. La toxicidad aguda determinada para el benceno y naftaleno alcanzó valores de 96h-CL₅₀ de 7,19 mg/l (95 % límites de confianza 6,39-7,89) y 1,79 mg/l (95% límites de confianza 1,32 - 2,13) respectivamente para *M. curema*; Mientras que para *O. ruber* se obtuvieron 5,70 mg/l (95 % límites de confianza 4,34 - 6,30) y 3,08 mg/l (95% límites de confianza 2,74 - 3,33). Estos ensayos indican una menor toxicidad del benceno para estas especies. En referencia a las actividades fisiológicas, las tasas respiratorias de peces expuestos a benceno, naftaleno y controles resultaron ser más elevados para *M. curema* que para *O. ruber*. Se determinó que *M. curema* y *O. ruber* expuestos a 0,01 mg/l de benceno alcanzaron valores de consumo de oxígeno de 0,62 y 0,36 mgO₂/g/h respectivamente. Mientras que a 0,1 mg/l el consumo de oxígeno se elevó a 0,95 y 0,44 mg O₂/g/h. Concentraciones de 0,01 mg/l de naftaleno produjo un incremento de 0,62 y 0,39 mgO₂/g/h para *M. curema* y *O. ruber* respectivamente; y a 0,1 mg/l incrementó el consumo de oxígeno a 0,94 y 0,64 mgO₂/g/h. Los valores de los controles obtenidos fueron de 0,79 mgO₂/g/h para *M. curema* y 0,29 mgO₂/g/h para *O. ruber*. Los resultados mostraron que no existían diferencias significativas entre el efecto del benceno y naftaleno sobre el consumo de oxígeno de ambas especies. Los valores promedio de amonio excretado por juveniles de *M. curema* expuestos a las concentraciones de 0,01, 0,1 y 1mg/l de benceno fueron 0,23 ± 0,07; 0,26 ± 0,13 y 0,51 ± 0,24 mg NH₄ - NH₃/g/día, respectivamente; todos inferiores al valor 0,81 ± 0,09 mg NH₄ - NH₃/g/día mostrado por el grupo control. En exposiciones a naftaleno, *M. curema* excretó 0,47 ± 0,09; 0,25 ± 0,04 y 0,41 ± 0,21 mg NH₄ - NH₃/g/día en las concentraciones señaladas. Por su parte, *O. ruber* excretó 0,32 ± 0,05; 0,30 ± 0,07 y 0,31 ± 0,06 mg NH₄ - NH₃/g/día y 0,39 ± 0,03; 0,41 ± 0,06 y 0,30 ± 0,06 mg NH₄ - NH₃/g/día expuestos a benceno y naftaleno respectivamente, en comparación con 0,92 ± 0,23 mg NH₄ - NH₃/g/día excretado por el grupo control. También los valores O:N obtenidos para ambas especies fueron mayores de 7 lo que indica una dependencia de la oxidación de carbohidratos y lípidos como sustrato energético en la obtención de energía para compensar sus necesidades metabólicas.

ABSTRACT: As part of a program to study the impact of aromatic hydrocarbons on tropical marine species, this paper presents results of comparative work on the effects of benzene and naphthalene to the white mullet *Mugil curema* and the «corocoro» *Orthopristis ruber*, two important fish species of the Venezuelan coasts. To this end, lethal and sublethal effects were measured by estimating the rate of excretion and respiratory activity (oxygen consumption, VO₂) in order to establish an oxygen: nitrogen (O:N) index which served for comparison between species and chemical compounds. Acute toxicity estimates for benzene and naphthalene yielded 96h-LC₅₀ values of 7.19 mg/l (95% confidence limits 6.39-7.89) and 1.79 mg/l (95% confidence limits 1.32-2.13) mg/l respectively for *M. curema*, while for *O. ruber* values of 5.70 mg/l (95% confidence limits 4.34-6.30) and 3.08 mg/l (95% confidence limits 2.74 - 3.33), respectively were calculated. This indicates a lower acute toxicity for benzene than naphthalene on both species. With regard to physiological endpoints, overall respiratory rates of fish exposed to either benzene, naphthalene or controls indicate higher values for *M. curema* than for *O. ruber*. Organisms exposed to benzene at concentrations of 0.01 mg/l of benzene, VO₂ for *M. curema* and *O. ruber* yielded 0.62 and 0.36 mg O₂/g/h respectively, while a concentration of 0.1 mg/l resulted on VO₂'s of 0.95 and 0.44 mg O₂/g/h respectively. Naphthalene at a concentrations of 0.01 mg/l gave VO₂'s of 0.62 and 0.39 mg O₂/g/h for *M. curema* and *O. ruber*, respectively, while at a concentration of 0.1 mg/l the same calculations resulted on VO₂ values of 0.94 and 0.64 mg O₂/g/h. Control VO₂'s indicated a value of 0.79 mg/g/h for *M. curema* and 0.29 mg O₂/g/h for *O. ruber*. No significant differences between the effect of benzene and naphthalene on the oxygen consumption were found. Ammonia excretion rate for juvenile of *M. curema* exposed to benzene concentrations of 0.01, 0.1 and 1 mg/l yielded values of 0.23 ± 0.07; 0.26 ± 0.13 and 0.51 ± 0.24 mg NH₄-NH₃/g/day, respectively; these values were lower than control (0.81 ± 0.09 mg NH₄-NH₃/g/day). *M. curema* exposed to naphthalene yielded values of 0.47 ± 0.09; 0.25 ± 0.04 and 0.41 ± 0.21 mg NH₄-NH₃/g/day. While for *O. ruber* values of 0.32 ± 0.05; 0.30 ± 0.07 and 0.31 ± 0.06; and 0.39 ± 0.03; 0.41 ± 0.06 and 0.30 ± 0.06 mg NH₄-NH₃/g/day exposed to benzene and naphthalene concentrations respectively, compared with controls (0.92 ± 0.23 mg NH₄-NH₃/g/day). In addition, values of O:N ratios higher than 7 indicate an increased dependence of both species to carbohydrates and/or lipid reserves to obtain energy in order to compensate metabolic costs.

¹ Dirección Actual: North Texas State University, Department of Biological Sciences, Denton, Texas 76201, USA.

INTRODUCCION

Los hidrocarburos aromáticos son constituyentes importantes del petróleo, siendo entre los más estudiados el benceno y el naftaleno, ya que ambos poseen una elevada toxicidad y se encuentran en altas proporciones tanto en el petróleo crudo como en el refinado. Su amplia utilización se debe además, a su estructura relativamente sencilla que los hace más estables, aún tratándose de compuestos volátiles, y a su relativa solubilidad en el agua (ANDERSON et al., 1974; STRUHSACKER et al., 1984; LAUGHLIN & NEFF, 1981; CORREA & VENABLES, 1985).

El efecto de los hidrocarburos aromáticos sobre peces ha sido bien documentado, especialmente sobre diversos aspectos tales como bioacumulación (ROUBAL et al., 1977; BERRY 1980), toxicidad aguda (DEVLING et al., 1982), actividad respiratoria (BROCKSEN & BAILEY, 1973; SCHNELL et al., 1980) y sobre su desarrollo y reproducción (STRUHSACKER et al., 1984; KORN & RICE, 1979; LINDEN et al., 1979).

El benceno además, ha sido señalado como causante de malformaciones de huevos y larvas de peces y se ha sugerido que puede interactuar con otros componentes aromáticos solubles en agua e incrementar su toxicidad. De cualquier modo, el efecto de concentraciones subletales de benceno sobre los procesos de absorción de vitelo, crecimiento y respiración demuestra que éste afecta la tasa metabólica y la utilización de energía por embriones y larvas de peces (STRUHSACKER, 1984). Por su parte, el naftaleno ha sido comúnmente empleado para estudios de contaminación por hidrocarburos. Así tenemos, entre otros, los trabajos de ROUBAL (1974), COLLIER et al. (1978) quienes analizaron el proceso de acumulación y eliminación de naftaleno en varias especies de peces; MOLES et al. (1981) quienes evaluaron el retardo en el crecimiento de alevines de salmón expuestos a este compuesto y DANGÉ (1986) quien realizó un estudio sobre sus efectos en el metabolismo de tilapias.

Aun cuando la investigación sobre la toxicidad de los hidrocarburos en ecosistemas acuáticos, se ha desarrollado firmemente, la mayoría de los trabajos se refieren a organismos que habitan en aguas templadas, disponiéndose de poca literatura sobre especies de aguas cálidas. CORREA & VENABLES (1985) han señalado la importancia de realizar estudios con fines comparativos en especies tropicales, tomando en cuenta que gran parte de la producción petrolera actual se centra en estas regiones.

Previo determinación del grado de toxicidad de los hidrocarburos, es conveniente evaluar sus efectos crónicos sobre procesos fisiológicos. Entre ellos, lo más comunes son los relacionados con alteraciones de la tasa respiratoria, en los que se determina el consumo de oxígeno, y de la tasa excretora, que mide los niveles de amonio liberados al medio. El estudio de los cambios en

la tasa respiratoria y en la excreción de organismos expuestos a concentraciones subletales de hidrocarburos es de gran importancia, puesto que da indicios de daños en el funcionamiento de su organismo aunque no causen efectos letales inmediatos. En base a lo anterior, varios autores han estudiado las alteraciones en el consumo de oxígeno y niveles de excreción de diversas especies (STICKLE et al., 1982; ANDERSON et al., 1974; HEITZ et al., 1974; LAUGHLIN & NEFF, 1981; CAPUZZO & LANCASTER, 1982; CAPUZZO et al., 1983; CRIDER et al., 1982).

La presente investigación tuvo como objeto la evaluación del efecto del benceno y naftaleno en la sobrevivencia y fisiología de peces marinos de importancia comercial. Para ello se definieron varios objetivos, el primero de los cuales fue determinar el grado de toxicidad del benceno y del naftaleno en juveniles de dos especies de peces comerciales típicos de las costas venezolanas, la lisa (*Mugil curema*) y el corocoro (*Orthopristis ruber*). También se expusieron organismos a concentraciones crónicas (subletales) de estos compuestos con el fin de examinar las alteraciones fisiológicas que podían producirse en la actividad respiratoria y excretora, y establecer la relación O:N como índice de utilización de energía, a ser usado como indicador de contaminación para estos hidrocarburos aromáticos.

MATERIALES Y METODOS

Los organismos fueron capturados en la localidad de Carenero, adyacente a la Estación Biológica de Tepialito de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Para ello, se emplearon dos redes tipo chinchorro playero de 10 y 60 m, con abertura de malla de 1 y 2 cm, respectivamente. Los animales fueron colocados en cavas de anime, con agua aireada a través de una bomba portátil y luego se transportaron al Instituto Oceanográfico de Venezuela por vía terrestre. Una vez en el laboratorio, los ejemplares fueron colocados en acuarios de vidrio con agua filtrada y aireación constante y se dejaron aclimatar por un período de 10 días, a una temperatura promedio de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ y con ciclo lumínico natural. A partir del segundo día de aclimatación, se procedió a alimentarlos con alimento comercial para peces. El peso promedio de *M. curema* estuvo en el orden de 2,25 g, mientras que *O. ruber* tuvo un promedio de 7,4 g.

Para evaluar el efecto del benceno y del naftaleno, en la sobrevivencia de juveniles de *Mugil curema* y *Orthopristis ruber*, se realizaron bioensayos estáticos de renovación y se determinó la Concentración Letal Media (CL_{50}). Para ello, se usaron frascos de vidrio de boca ancha de tres litros de capacidad, con aireación constante y se colocaron 10 organismos, por concentración con su réplica. Se probaron concentraciones de benceno y naftaleno en un rango de 0 a 10 mg/l, las cuales fueron preparadas a partir de soluciones patrones de 1.000 mg/l, empleando etanol como solvente. Los ensayos se llevaron a cabo

durante 96 horas, con renovación total de agua cada 24 horas para minimizar la volatilización del contaminante. La alimentación fue suspendida 24 horas antes de la exposición.

Las tasas de consumo de oxígeno de organismos expuestos a estos hidrocarburos fue estudiada mediante un sistema de flujo continuo, similar al descrito por CORREA & COLER (1983). Para ello, se colocó cada organismo individualmente dentro de una cámara, que poseía botellas BOD a la entrada y a la salida, y todo el sistema estaba conectado a un tubo de drenaje. La velocidad de flujo se mantuvo controlada a través de un sistema de llaves, en aproximadamente 9 ml/min. El consumo de oxígeno se determinó por diferencias en las concentraciones de oxígeno de los recipientes colocados en la entrada y salida de la cámara. Las mediciones se realizaron con un oxígenómetro. Cada experimento tuvo una duración de 24 horas, se probaron tres concentraciones de cada hidrocarburo (0,01; 0,1 y 1 mg/l) y se realizaron 10 réplicas para cada condición experimental.

Los ensayos para determinar la influencia de hidrocarburos sobre la tasa de excreción de amonio en las especies estudiadas se realizaron en sistemas estáticos como los descritos previamente. En este caso, se seleccionaron concentraciones subletales de hidrocarburos a partir de las CL_{50} , las cuales fueron 0,01; 0,1 y 1 mg/l de benceno y naftaleno, respectivamente. Para la determinación de la concentración de nitrógeno amoniacal presente en el agua, se empleó el análisis químico descrito por HOROLEFF (1969). Sin embargo, el bioensayo se prolongó solo por 12 horas y la aireación fue eliminada para prevenir la volatilización del amonio. Cada serie de bioensayos consistió de siete (7) réplicas con su control y un frasco sin organismo, que funcionó como control para el agua. Adicionalmente, para cada bioensayo se preparó una serie de controles con la máxima concentración de etanol usada en la solubilización de los hidrocarburos, con la finalidad de determinar si el etanol empleado como solvente, producía efectos sobre los organismos. Finalmente, se calcularon los cocientes Oxígeno/Nitrógeno (O:N) como un índice de utilización de energía.

Se emplearon análisis de varianza y análisis de Duncan para la comparación de resultados en ambas pruebas (STEEL & TORRIE, 1960; SOKAL & ROHLF, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSION

Las concentraciones Letales Medias a 96 horas ($96h-CL_{50}$) para juveniles de *Mugil curema* expuestos a benceno y naftaleno fueron de 7,19 mg/l (95% límites de confianza 6,39 - 7,89) y 1,79 mg/l (95% límites de confianza 1,32-2,13) respectivamente. De los resultados obtenidos se desprende que éste último es notablemente más tóxico que el benceno para esta especie, lo cual coincide con lo señalado por otros autores quienes sostienen que los

hidrocarburos aromáticos de bajo peso molecular incrementan su toxicidad, debido a un aumento de su potencial de bioacumulación, en aproximadamente 10 veces por cada anillo bencénico (SOUTHWORTH et al., 1978). La misma situación se presentó en la otra especie estudiada, *Orthopristis ruber*, en donde la toxicidad del benceno, fue de 5,70 mg/l (95% límites de confianza 4,34-6,30) y 3,08 mg/l (95% límites de confianza 2,74-3,33) para benceno y naftaleno respectivamente. No hubo mortandad ni en los controles ni entre los organismos expuestos a etanol. En general, estas especies han demostrado ser altamente sensibles a ambos contaminantes en comparación con otros organismos estudiados. En estudios sobre la toxicidad del benceno, MEYERHOFF (1975), obtuvo un $96h-CL_{50}$ de 11 mg/l para la especie *Morone saxatilis*; mientras que BROCKSEN & BAILEY (1973) señalan un valor de 15 mg/l para *Oncorhynchus tshawytscha*, ambos muy superiores a los valores obtenidos en esta investigación (7,19 mg/l para *M. curema* y 5,70 mg/l para *O. ruber*). Los valores de $96h-CL_{50}$ de naftaleno en juveniles de *M. curema* y *O. ruber* fueron de 1,79 y 3,08 mg/l, valores inferiores a los señalados por DANGE (1986) para *Oreochromis mossambicus* (7,9 mg/l a las 96 horas y 2,4 mg/l a las 24 horas). Resultados similares para *M. curema* (0,1 mg/l) fueron indicados por CORREA & VENABLES (1985). Más recientemente, GARCÍA (1988) obtuvo un $48h-CL_{50}$ para el benceno en *M. curema*, muy superior (22 mg/l) a la concentración encontrada en esta investigación. Probablemente esas diferencias pueden deberse a las distintas metodologías utilizadas; ya que el etanol empleado pudo haber contribuido a la estabilización del benceno en el agua, disminuyendo su tasa de volatilización, mientras que GARCÍA (1988) por su parte, empleó una solución acuosa de benceno sin adición de ningún solvente orgánico, encontrando que el 50% del hidrocarburo se perdía en las primeras 6 horas incrementándose al 80-90% de pérdida, a las 12 horas.

BROCKSEN & BAILEY (1973) han recalcado la importancia del metabolismo respiratorio en la evaluación del estrés producido por variables ambientales. Obviamente el organismo debe hacer un gasto de energía para contrarrestar el efecto del contaminante y poder así llevar a cabo sus funciones vitales. En la medida en que la energía disponible no sea suficiente para mantener el metabolismo estándar y realizar los procesos de detoxificación, el organismo enfrentará problemas fisiológicos de mayor severidad. Nuestros resultados demuestran una ligera tendencia de los organismos estudiados a incrementar el consumo de oxígeno, como respuesta a su exposición a hidrocarburos, sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. En la Fig. 1 se observa el efecto del benceno sobre el consumo de oxígeno de juveniles de *Mugil curema* y *Orthopristis ruber*. Los ejemplares de *M. curema* exhibieron comportamientos diferentes en las dos concentraciones empleadas. La menor de ellas 0,01 mg/l produjo una ligera reducción del consumo de oxígeno ($0,62 \pm 0,44$ mg/O₂/g/h) mientras que

a 0,1 mg/l el consumo se incrementó a $0,95 \pm 0,38$ mg O₂/g/h. Estas variaciones no fueron estadísticamente diferentes al compararlas con el consumo de los controles ($0,79 \pm 0,09$ mg O₂/g/h), aunque sí hubo diferencias significativas entre las dos concentraciones usadas ($P < 0,01$). En *O. ruber* hubo un ligero incremento de la tasa respiratoria de organismos expuestos a 0,01 y 0,1 mg/l de benceno ($0,36 \pm 0,08$ y $0,44 \pm 0,12$ mg O₂/g/h, respectivamente), aunque tampoco hubo diferencias significativas con respecto a los controles ($0,29 \pm 0,06$ mg O₂/g/h) ni entre las concentraciones empleadas.

La Fig. 1 muestra también el efecto del naftaleno sobre la tasa respiratoria de ambas especies. *M. curema* reaccionó al naftaleno de la misma forma que el benceno, experimentando una leve reducción del consumo de oxígeno a 0,01 mg/l de naftaleno, a niveles similares a los exhibidos para el benceno ($0,62 \pm 0,12$ mg O₂/g/h). La exposición a 0,1 mg/l de naftaleno produjo un incremento similar al señalado para el benceno ($0,94 \pm 0,25$ mg O₂/g/h). No se encontraron diferencias significativas entre el efecto del benceno y del naftaleno sobre el consumo del oxígeno de organismos de esta especie, expuestos a la misma concentración de contaminante. En *O. ruber*, nuevamente el incremento en la tasa respiratoria fue proporcional a la concentración de naftaleno. No se encontraron diferencias significativas entre organismos expuestos a la menor concentración (0,01 mg/l), con respecto a los controles, pero sí las hubo entre los controles y 0,1 mg/l ($0,64 \pm 0,11$ mg O₂/g/h). El consumo de oxígeno exhibido por juveniles de *M. curema* no expuestos a ningún contaminante, fue significativamente mayor que el *O. ruber* en las mismas condiciones. Al comparar el efecto de las concentraciones menores de ambos hidro-

carburos entre las dos especies estudiadas, no se encontraron diferencias significativas; sin embargo es de hacer notar que esto es una consecuencia de una leve reducción en el consumo de oxígeno de *M. curema* e incremento de éste en *O. ruber*, por lo que estos hidrocarburos, a la concentración de 0,01 mg/l parecen actuar en forma inversa sobre la tasa respiratoria de las especies estudiadas. En cuanto a las concentraciones mayores de hidrocarburos, el análisis de Duncan demostró que existían diferencias significativas solamente entre el consumo de oxígeno de *M. curema* y *O. ruber* expuestos a 0,1 mg/l de benceno y naftaleno.

Esta tendencia a incrementar el consumo de oxígeno ante la exposición de hidrocarburos, ha sido corroborado por otros autores (BROCKSEN & BAILEY, 1973; ANDERSON et al., 1974; GARCÍA, 1988) y se ha atribuido al proceso de biotransformación de los hidrocarburos absorbidos (LEE et al., 1972 en STOSS & HAINES, 1979; BROCKSEN & BAILEY, 1973). GARCÍA (1988) usando *M. curema* observó también un incremento en la tasa respiratoria de juveniles expuestos a benceno; sin embargo, los valores de consumo de oxígeno indicados por él son muy inferiores a los obtenidos en este estudio, incluso en los controles. La variaciones en las respuestas de los organismos expuestos, pueden estar relacionadas con las diferencias en las concentraciones de benceno empleadas. BROCKSEN & BAILEY (1973), estudiando el efecto del benceno sobre la tasa respiratoria de peces, encontraron que el consumo de oxígeno a bajas concentraciones era mayor que a concentraciones más altas y proponen que estos cambios pueden deberse a efectos narcóticos de los hidrocarburos, los cuales han sido señalados también por BERRY (1980). Resultados similares fueron obtenidos por STRUHSACKER et al. (1984)

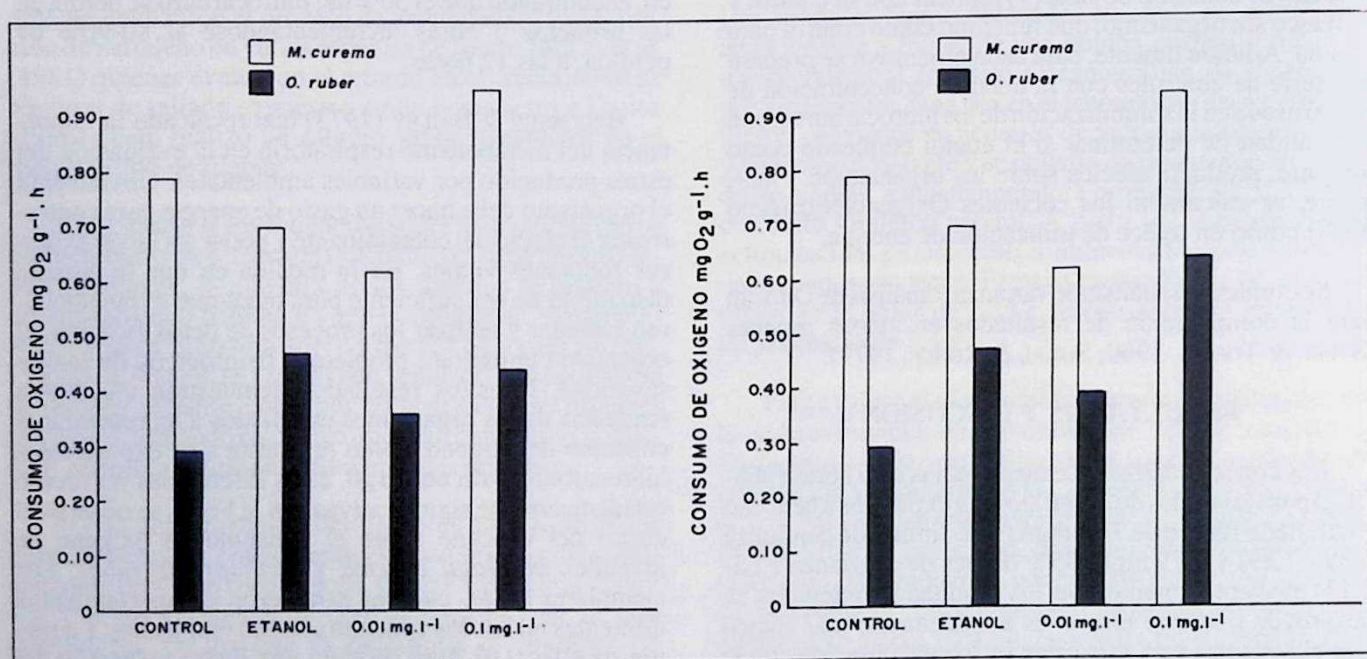


Fig. 1 Tasa respiratoria de las especies estudiadas expuestas a diferentes concentraciones de benceno (izquierda) y naftaleno (derecha).

en larvas de anchoas y arenques expuestos a diferentes concentraciones de benceno; mientras que HERTZ et al. (1974) han sugerido que la alteración del ritmo respiratorio de la especie *Mugil cephalus*, expuesta a altas concentraciones de hidrocarburos se debe a la deposición de éstos en las branquias, lo que produce una interrupción del intercambio gaseoso que se realiza en ellas. Con respecto a los controles no tenemos evidencia que pueda explicar la disparidad de los resultados. Dado que las soluciones de hidrocarburos se prepararon empleando etanol como solvente, fue necesario evaluar su acción sobre la tasa respiratoria. Se escogió este compuesto porque autores como ROUBAL et al. (1977) y DiMICHELE & TAYLOR (1978) afirman que no afecta el metabolismo de muchos peces. En nuestro caso, el efecto de etanol fue diferente en cada especie produciendo una reducción del consumo de oxígeno en lisas ($0,70 \pm 0,17 \text{ mg O}_2/\text{g/h}$) y un incremento en corocoros ($0,47 \pm 0,13 \text{ mg O}_2/\text{g/h}$); sin embargo, no hubo diferencias significativas con respecto a los controles correspondientes, ni entre las dos especies expuestas a etanol.

Como consecuencia de las alteraciones fisiológicas que afectan los procesos respiratorios en organismos expuestos a xenobióticos, se han estudiado varias fuentes alternas de energía, que podrían ser utilizadas para las reacciones de desintoxicación y mantenimiento del metabolismo estándar; haciendo especial énfasis en las proteínas por ser, no sólo fuente de energía opcional, sino por constituir material de reserva para la reparación de tejidos. Con este propósito se evaluó el efecto que ejercían el benceno y el naftaleno, sobre la excreción de amonio de los ejemplares estudiados. El amonio es el principal producto de excreción en los organismos acuáticos y proviene de la degradación de proteínas, a través del proceso de desaminación oxidativa en el cual los aminoá-

cidos son transformados a cetácidos, que posteriormente son oxidados en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, con producción de energía útil a la célula. Esta reacción se produce por intermedio de los aminoácido oxidasas con intervención de flavinas como aceptores de hidrógeno, originando entre sus productos amonio, el cual posteriormente es expulsado al medio (WILSON, 1979).

En la Fig. 2 se observan las alteraciones de la tasa excretora de juveniles de *M. curema* y *O. ruber*, expuestas a varias concentraciones de benceno. Las dos concentraciones empleadas (0,01, 0,1 mg/l) produjeron en ambas especies una reducción significativa del amonio excretado, con respecto a los controles. En ejemplares de *M. curema* expuestos a 0,01 y 0,1 mg/l de benceno, las concentraciones promedio de amonio excretado ($0,23 \pm 0,07$ y $0,26 \pm 0,13 \text{ mg NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$); el análisis de Duncan demostró que esas diferencias eran significativas. Con respecto a *O. ruber*, los niveles promedio de amonio fueron similares en las tres concentraciones empleadas 0,01, 0,1 y 1 mg/l obteniéndose valores de $0,32 \pm 0,05$; $0,30 \pm 0,07$ y $0,31 \pm 0,06 \text{ mg NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$ respectivamente.

La Fig. 2 muestra también los efectos del naftaleno sobre la excreción del amonio en los organismos estudiados. De nuevo se observa una drástica disminución en la tasa excretora en ejemplares de ambas especies expuestos a este hidrocarburo, con respecto a los controles. En lisas, la mayor reducción se observó a 0,1 mg/l ($0,25 \pm 0,04 \text{ mg NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$) seguida de 1 y 0,01 mg/l ($0,41 \pm 0,21$ y $0,47 \pm 0,09 \text{ mg NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$, respectivamente); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre ellas. En *O. ruber*, la máxima concentración (1 mg/l) tuvo un efecto más marcado sobre la reducción de amonio excretado ($0,30 \pm 0,06 \text{ mg NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$) en

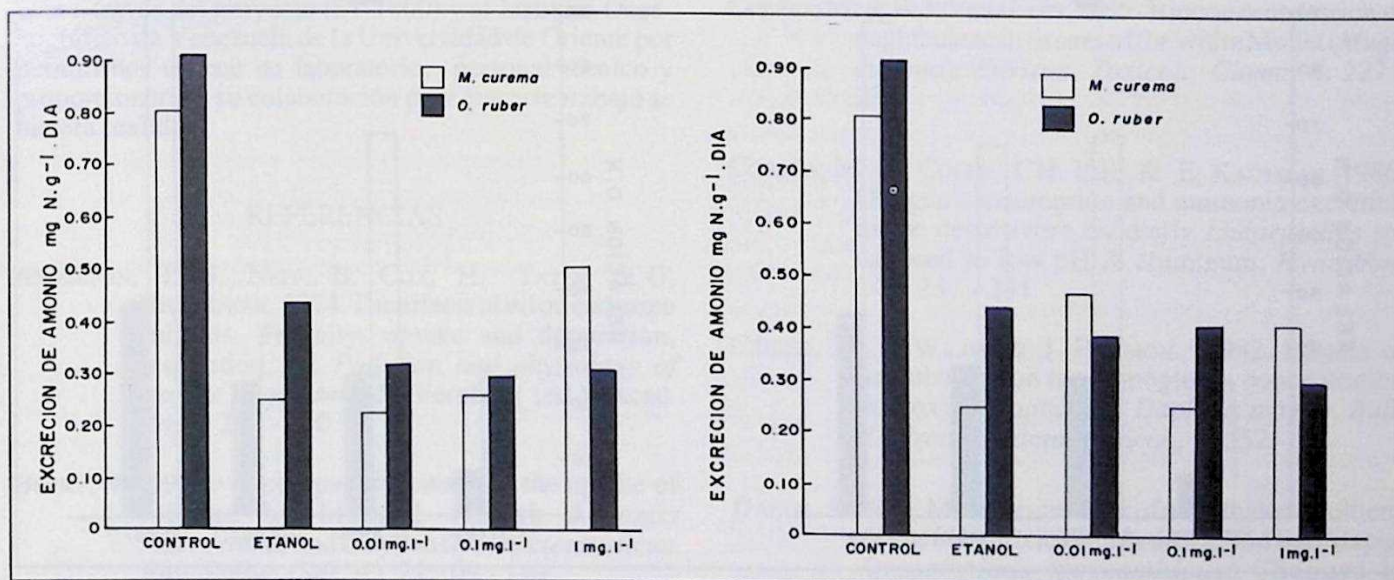


Fig. 2 Tasa excretora de las especies estudiadas expuestas a diferentes concentraciones de benceno (izquierda) y naftaleno (derecha).

comparación con las concentraciones de 0,01 y 01 mg/l ($0,39 \pm 0,03$ y $0,41 \pm 0,06$ mg $\text{NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$, respectivamente), aunque el análisis de Duncan demostró que esas diferencias no eran significativas. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre las respuestas de las dos especies a los diferentes tratamientos, a pesar de que la tasa excretora de los controles de *O. ruber* ($0,92 \pm 0,23$ mg $\text{NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$) fue ligeramente superior a la de los controles de *M. curema* ($0,81 \pm 0,09$ mg $\text{NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$).

Independientemente de las ligeras diferencias encontradas, en nuestros resultados resalta una fuerte tendencia a reducir la tasa excretora por parte de los organismos expuestos a estos contaminantes, lo cual pudiese ser consecuencia de lesiones en los órganos involucrados en las reacciones de producción de amonio, como secuela de la acción de los hidrocarburos. Previamente, DiMICHELE & TAYLOR (1978) encontraron degeneraciones de tejidos hepáticos y renales en ejemplares de *Fundulus heteroclitus*, expuestos a naftaleno. Por otra parte, los organismos expuestos a etanol, el solvente empleado para preparar soluciones de hidrocarburos, redujeron significativamente su tasa excretora con respecto a los controles en ambas especies. Aunque su efecto fue mayor en *M. curema* ($0,25 \pm 0,05$ mg $\text{NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$) que en *O. ruber* ($0,44 \pm 0,03$ mg $\text{NH}_4\text{-NH}_2/\text{g/día}$), no se encontraron diferencias significativas entre las dos especies, ni entre el etanol y las diferentes concentraciones de hidrocarburos, con la excepción de *M. curema* expuestos a 1 mg/l de benceno. Esto sugiere que el etanol pudo haber interferido con las reacciones de desaminación, siendo tal vez el responsable de la reducción en la tasa excretora. Sin embargo, se carece de evidencia experimental al respecto.

GARCÍA (1988) observó una tendencia similar en juveniles de *Mugil curema* expuestos a benceno, aunque los valores de amonio excretado encontrados por él de nuevo fueron muy inferiores a los obtenidos en esta investigación. Tampoco en este caso hubo indicios que permitan explicar la disparidad de los resultados.

El incremento de la tasa respiratoria junto a la disminución de los niveles de excreción de amonio fueron responsables de las alteraciones del cociente O:N, en todos los tratamientos experimentales. La Fig. 3 muestra las relaciones O:N de ejemplares juveniles de *M. curema* y *O. ruber* expuestos a benceno y naftaleno, respectivamente. Los gráficos demuestran marcadas diferencias entre las dos especies en todos los tratamientos, a excepción de la menor concentración de naftaleno. Los ejemplares de *M. curema* no tratados presentaron un valor de 3 veces mayor (23,5) que el de *O. ruber* (7,7) en condiciones similares. En ambas especies, la exposición a etanol se tradujo en un marcado incremento de la relación O:N equivalente en cada caso, al triple de los controles respectivos (68,4 para *M. curema* y 25,4 para *O. ruber*).

El margen de la diferencia entre las especies se conservó igual que para los controles. El efecto de la concentración más baja de benceno, 0,01 mg/l, fue similar al de etanol, obteniéndose valores de 66,1 para *M. curema* y 26,9 para *O. ruber*. La exposición a 0,1 mg/l de benceno produjo un fuerte incremento en el cociente O:N en ambas especies que significó un aumento de 4 veces el valor de los controles en *M. curema* (87,8) y 5 veces en *O. ruber* (35,5). En ambas concentraciones, *M. curema* presentó relaciones O:N dos y media veces mayores que las con-

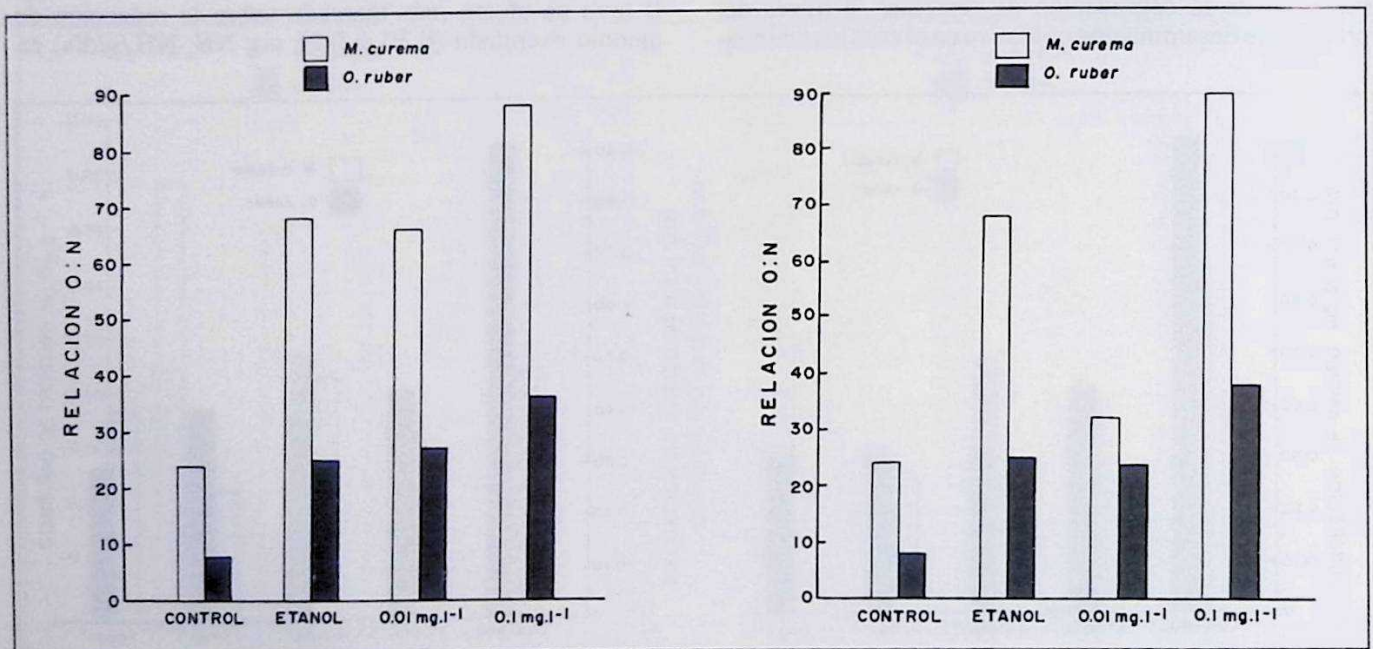


Fig. 3 Relación O:N de las especies estudiadas expuestas a diferentes concentraciones de benceno (izquierda) y naftaleno (derecha).

centraciones usadas para *O. ruber*. El efecto proporcional de las concentraciones se presentó nuevamente en los organismos expuestos a naftaleno. El valor obtenido a 0,01 mg/l para *O. ruber* (23,5) fue similar al de etanol y al de la menor concentración de benceno, representando un incremento de tres veces el valor del control. Sin embargo, el valor de la relación O:N en lisas expuestas a esta concentración fue menor (31,9) que en cualquier otro tratamiento, representando un incremento de 1,3 veces el valor del control, y colocándose muy por debajo de los valores obtenidos para etanol y 0,01 de benceno, en esta especie. Las diferencias entre especies se estimó por el mismo orden señalado para los controles. Los valores máximos se obtuvieron en las concentraciones de 0,1 mg/l de naftaleno, 90,4 para *M. curema* y 37,7 para *O. ruber*, representando 4 y 5 veces el valor de los controles respectivos. Estos valores estuvieron muy cercanos a los correspondientes a 0,1 mg/l de benceno y la diferencia entre especies fue similar a la indicada para éste.

De acuerdo con lo señalado por CAPUZZO & LANCASTER (1982) y CORREA et al. (1986) valores O:N de aproximadamente 7 indica que las proteínas son el sustrato para la producción de energía, mientras que valores superiores indican una mayor dependencia de lípidos y carbohidratos. Los altos valores alcanzados por el cociente O:N en esta investigación, descartan la utilización de proteínas como fuente de energía por los organismos estudiados, expuestos tanto a hidrocarburos como a etanol. Ello indica una dependencia de la oxidación de carbohidratos y lípidos como sustrato en la obtención de energía para compensar sus actividades metabólicas.

AGRADECIMIENTOS

Al CONICIT por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto (S1-1800) y al Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente por permitirnos utilizar su laboratorio, personal técnico y proporcionarnos su colaboración para que este trabajo se hiciera realidad.

REFERENCIAS

- ANDERSON, J., J. NEFF, B. COX, H. TATEM & G. HIGHTOWER. 1974. The effects of oil on estuarine animals. Toxicity, uptake and depuration, respiration. In: *Pollution and physiology of marine organisms*. F. Vernberg (ed.). Acad. Press: 285 - 310.
- BERRY, W. 1980. A comparative study of the uptake of toluene by bluegill sunfish *Lepomis macrochirus* and crayfish *Orconectes rusticus*. *Env. Pollut.* (Ser. A), 21:109 - 119.
- BROCKSEN, R. & H. BAYLEY. 1973. Respirator response of juvenile Chinook salmon and striped bass exposed to benzene, a water soluble component of crude oil. In: *Joint conference on prevention and control of oil spills*. Wash., D.C. American Petroleum Institute: 783-791.
- CAPUZZO, J. & B. LANCASTER. 1982. Physiological effects of petroleum hydrocarbons on larval lobster (*Homarus americanus*): Hydrocarbons accumulation and interference with lipid metabolism. In: *Physiological mechanisms of marine pollutant toxicity*. E. Verneberg, A. Calabrese, F. Thurberg y F. Vernberg (ed.). Acad. Press: 447-501.
- CAPUZZO, J., B. LANCASTER & G. SASAKI. 1983. The effects of petroleum hydrocarbons on lipid metabolism and energetics of larval development and metamorphosis in the american lobster (*Homarus americanus* Milne Edwards). *Sec. Int. Sym. on reponses of marine organisms to pollutants*; 27 pp.
- COLLIER, T., L. THOMAS & D. MALINS. 1978. Influence of environmental temperature on disposition of dietary naphthalene in coho salmon (*Oncorhynchus kisuth*). Isolation and identification of individual metabolites. *Comp. Biochem. Physiol.*, 61D: 23 - 28.
- CORREA, M. & R. COLER. 1983. Enhanced oxygen uptake rates in dragonfly nymphs (*Somatochlora cingulata*) as indication of stress from naphthalene. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 30: 269 - 276.
- CORREA, M. & B. J. VENABLES. 1985. Bioconcentration of naphthalene in tissues of the white Mullet (*Mugil curema*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 4: 227 - 231.
- CORREA, M., R. COLER, CH. YIN, & E. KAUFMAN. 1986. Oxygen consumption and ammonia excretion in the detritivore caddisfly *Limnephillus* sp. exposed to low pH & aluminum. *Hydrobiol.*, 140: 237 - 241.
- CRIDER, J., J. WILHM & J. HARMON. 1982. Effects of naphthalene on the hemoglobin concentration and oxygen uptake of *Daphnia magna*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 28: 52 - 57.
- DANGE, A. 1986. Metabolic effects of naphthalene, toluene or phenol intoxication in the cichlid fish tilapia, *Oreochromis mossambicus*: Changes in aminotransferase activities. *Environ. Pollut.* (Ser. A.), 42: 311 - 323.

- DEVLING G. E., J. BRAMER & R. PUYEAR. 1982. Acute toxicity of toluene to three age group of fathead minnows *Pimephales promelas*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 29: 12 - 17.
- DiMICHELE, L. & M. TAYLOR. 1978. Histopathological responses of *Fundulus heteroclitus* to nephthalene exposure. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35: 1060 - 1066.
- GARCÍA, H. 1988. Efectos del benceno sobre el consumo de oxígeno y la excreción de amonio de la lisa *Mugil curema* (Valenciennes, 1836) (Pisces, Mugilidae). *Tesis de Grado. Dpto. de Biología, Esc. Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná*, 66 pp.
- HEITZ J., L. LEWIS, J. CHAMBERS & J. YARBROUGH. 1974. The acute effects of empire mix crude oil on enzymes in oysters, shrimps and mullet. In: *Pollution and physiology of marine organisms*. F. Vernberg y W. Vernberg (ed.). Acad. Press: 311 - 328.
- KOROLEFF, F. 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *ICES, C.M. 1969/Hydr. Comm., 9 HYDR. Comm.*
- LAUGHLIN, R. JR. & J. NEFF. 1981. Ontogeny of respiratory and growth responses of larval mud crab *Rhytidoponopeus harrisi* exposed to different temperatures, salinities and naphthalene concentrations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 5: 319-332.
- LINDEN, O., J. SHARP, R. LAUGHLIN, JR. & J. NEFF. 1979. Interactive effects of salinity, temperature and chronic exposure to oil in the survival and developmental rate of embryos of estuarine killfish *Fundulus heteroclitus*. *Mar. Biol.*, 51: 101-109.
- MOLES, A., S. BATES, S. RICE & S. KORN. 1981. Reduced growth of coho salmon fry exposed to two petroleum components, toluene and naphthalene, in freshwater. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 110: 430-436.
- ROUBAL, W. 1974. Spin-labelling of living tissue-a method for investigating pollutant-host interaction. In: *Pollution and physiology of marine organisms*. F. Vernberg y W. Vernberg (ed.). Acad. Press: 367 - 379.
- ROUBAL, W., T. COLLIER & D. MALINS. 1977. Accumulation and metabolism of carbon 14 labelled benzene, and anthracene by young coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 51: 513-529.
- SCHNELL, J., E. GRUGER & D. MALINS. 1980. Mono-oxygenase activities of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) liver microsomes using three polycyclic aromatic hydrocarbon substrates. *Xenobiotica*, 10(3): 229-234.
- SOKAL, R. & J. ROHLF. 1979 *Biometría*. H. Blume (ed.): 832 pp.
- SOUTHWORTH, G., J. BEAUCHAMP & P. SHMIDER. 1978. Bioaccumulation potential of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Daphnia pulex*. *Water. Res.*, 12: 973-977.
- STELL, R. & J. TORRIE. 1960. *Principles and procedures in Statistics*, McGraw-Hill. (N.Y.): 481 pp.
- STICKLE, W., T. SABOURIN & S. RICE. 1982. Sensitivity and osmoregulation of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, exposed to toluene and naphthalene. In: *Physiological mechanisms of marine pollutant toxicity*. W. Vernberg, A. Calabrese, F. Thurberg y F. Vernberg (ed.). Acad. Press: 331-348.
- STOSS, F. & T. HAINES. 1979. The effects of toluene on embryos and fry of the japanese medaka *Oryzias latipes* with a proposal for rapid determination of maximum acceptable toxicant concentrations. *Environ. Pollut.*, 20: 139-148.
- STRUHSAKER, J., M. ELDRIDGE & T. ECHEVERRÍA. 1984. Effects of benzene (a water-soluble component or crude oil) on eggs and larvae of pacific herring and northern anchovy. In: *Pollution and physiology of marine organisms*. F. Vernberg y W. Vernberg (ed.). Acad. Press: 253-284.