



EFECTOS ADVERSOS MORFOLÓGICOS EN EXPOSICIÓN HIPERAGUDA A LODOS DE PERFORACIÓN EN BASE AGUA EN *Hydractinia symbiolongicarpus* (Familia: Hydractiniidae)

Morphologic adverse effects in hyperacute exposition to water-based mud in *Hydractinia symbiolongicarpus* (Hydractiniidae)

Contreras-A, Javier Nicolás^{1,2} 

¹ Departamento de Biología, Instituto de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá

² Instituto para las Neurociencias y la Salud IN&S

* **For correspondence:** jncontrerasa@unal.edu.co

Received: 24th February 2020. **Returned for revision:** 29th August 2020. **Accepted:** 13th October 2020.

Associate Editor: Alan Giraldo

Citation/ citar este artículo como: Contreras-A JN. Efectos adversos morfológicos en exposición hiperaguda a lodos de perforación en base agua en *Hydractinia symbiolongicarpus* (Familia: Hydractiniidae) Acta Biol Colomb. 2021;26(3):303-311. Doi: <https://doi.org/10.15446/abc.v26n3.85300>

RESUMEN

Los desechos derivados del proceso de perforación en las plataformas marinas petroleras pueden dejar hasta 200 000 toneladas de residuos de perforación en los ecosistemas marinos. El principal agente contaminante son los lodos de perforación petrolera (LPPs), que son usados para enfriar y lubricar la broca de perforación, además de contrarrestar fuerzas de presión y posibles fugas de hidrocarburos. Se sabe que los LPPs tienen un efecto contaminante y tóxico observándose alteraciones en los ecosistemas y efectos adversos en organismos invertebrados marinos, debidos principalmente a la presencia de barita y trazas de metales pesados. En este trabajo se realizaron experimentos de exposición hiperaguda con mezclas completas de lodos de perforación base agua (WBM) a máximos niveles de concentración en colonias de *Hydractinia symbiolongicarpus*. Los resultados mostraron cambios significativos ($p < 0,001$) en la morfología de los pólipos inmediatamente después del contacto con WBM, con un incremento 1,5 veces en el diámetro del pólipo y una retracción en la longitud de los tentáculos del 75 %. Después de la exposición (fase de recuperación), se observó una disminución de biomasa a las 72 h con pérdida del 50 % de los pólipos y una reducción de la mata estolonial cercana al 50 % ($p < 0,01$). Efectos similares han sido reportados en otras especies de cnidarios, como los corales, donde se observó retracción de pólipos y zonas expuestas de exoesqueleto. La exposición a WBM genera irritación tisular en exposición directa y en casos severos pérdida de biomasa.

Palabras Clave: Contaminación ambiental, Hydrozoa, lodos de perforación petrolera, plataformas de perforación petrolera, toxicidad.

ABSTRACT

Wastes derived from the drilling process on offshore oil platforms can leave up to 200 000 tons of cuttings in marine ecosystems. The principal pollutants in cuttings are drilling muds (DM). The DM are used to cool and lubricate the drill bit, counteract pressure forces and possible hydrocarbon leaks. DM contaminate the marine environment and have toxic adverse effects upon marine invertebrate organisms, mainly due to the presence of barite and traces of heavy metals. In this research, hyperacute exposure experiments were performed with complete mixtures of water-based drilling muds (WBM) at maximum concentration levels in *Hydractinia symbiolongicarpus* colonies. Results showed significant changes ($p < 0.001$) in polyp morphology immediately after contact with WBM, with a 1.5-fold increase in its diameter and a 75 % of retraction in the length of the tentacles. A biomass loss was observed after exposure (recovery phase). Near 50 % of polyps and stolonial mat were bioabsorbed with statistical significance ($p < 0.01$) at 72 h. Similar effects have been reported in other species of cnidarians, such as corals, where there is retraction of polyps and exoskeleton exposed areas also observed. Exposure to WBM generates tissue irritation and extreme cases loss of biomass.

Keywords: Drilling muds, Hydrozoa, offshore platforms, polluting environmental, toxicity.

INTRODUCCIÓN

Los residuos derivados de la perforación petrolera son una fuente importante de contaminación de los ecosistemas marinos. Entre los años 2010 y 2016 se registró un poco más de 3200 plataformas de perforación petrolera en el mundo, que según distintas estimaciones de residuos de perforación por pozo (Gettleson, 1980; Bechmann *et al.*, 2006; Jagwani *et al.*, 2011) pudieron dejar entre 640 000 y 320 000 000 de toneladas de residuos y escombros de perforación en el mar. Los residuos de perforación se encuentran compuestos por Lodos de Perforación Petrolera (LPPs) (Pabortsava *et al.*, 2011), a los cuales se les atribuye principalmente los agentes contaminantes y tóxicos (Gettleson, 1980). Los LPPs son una mezcla compleja de sustancias incorporadas en una matriz líquida usada principalmente para enfriar y lubricar la broca de perforación (Ruiz, 2012), remover los escombros del fondo del pozo de perforación, contrarrestar las presiones opuestas y laterales dentro del pozo, evitar escapes de gas y petróleo, prevenir el colapso de las paredes internas del pozo y permitir el proceso de instalación del casco protector (Jagwani *et al.*, 2011). Los lodos de perforación base agua (WBM, por su sigla en inglés Water-based drilling muds) son los más usados por su menor costo de producción, menor impacto ambiental, mayor desarrollo, tecnificación y variedades en la formulación (Caenn *et al.*, 2011). Los WBM presentan un aspecto físico líquido, coloidal, viscoso, de color variable entre grises a pardos. Los primeros WBM que se usaban en las plataformas de perforación petrolera tenían en su formulación más de 60 compuestos, sustancias y materiales de derivación biológica (Gettleson, 1980) que se clasificaban en cuatro fases: Líquida, coloidal, química e inerte (Ruiz, 2012). Los compuestos principales de los WBM son una mezcla compleja de solventes, arcillas, fosfatos, compuestos a base de lignina y surfactantes (Gettleson, 1980), dejando los compuestos de ligninas ferrocromo-sulfatadas trazas de cromo contaminante en los ambientes marinos (Okaiyeto *et al.*, 2016; Ulmer *et al.*, 1983).

El estudio toxicológico de los LPPs se ha enfocado en la medición de dosis y concentraciones letales (LD50, LC50), el análisis de impacto ambiental a nivel ecosistémico y poblacional, la cuantificación de cambios en la estructura de las comunidades bacterianas, y la evaluación de alteraciones fisiológicas en algunos modelos animales (Geehan *et al.*, 2006; Bravo, 2007; Pabortsava *et al.*, 2011; Bakke *et al.*, 2013; Purser, 2015). Se ha demostrado que los LPPs tienen potencial tóxico en los ecosistemas marinos rápidamente después de su aplicación (Geehan *et al.*, 2006; Bravo, 2007; Pabortsava *et al.*, 2011; Bakke *et al.*, 2013; Purser, 2015). Específicamente, uno de los componentes más abundantes de los LPPs, las arcillas de barita, fueron hallados en los tejidos de coral ubicados a 10 Km de las plataformas de perforación, evidenciando una bioacumulación de Bario en el exoesqueleto (Lepland y Mortensen, 2007). En siete especies de corales formadores de arrecife: *M. annularis*, *A. agaricites*,

D. stokesii, *A. cervicornis*, *P. divaricata*, *P. furcata*, y *P. asteroides*, se reportaron efectos adversos a concentraciones de 3,16 % a 100 % del sobrenadante y la fase de suspensión particulada de una mezcla 1:1 de lodo con agua marina filtrada, a un tiempo de exposición de hasta 96 h, los cuales incluyeron la retracción e inflamación de pólipos, incremento en secreción de moco, desintegración de tejidos y muerte de la colonia (Thompson Jr *et al.*, 1980). En otro caso, el coral de aguas profundas *L. pertrusa* mostró efectos adversos similares, como la retracción de pólipos e incremento en la secreción de moco, además de la muerte de pólipos en un 2,2 % de los casos observados después de 84 días de exposición a una concentración de 2,5 mg WBM por 100 ml disolución (Larsson *et al.*, 2013).

En este trabajo se registraron los cambios morfológicos en exposición hiperaguda a lodos de perforación petrolera base agua (WBM) en el cnidario *Hydractinia symbiolongicarpus* a partir de registro fotográfico. Este es un cnidario colonial sésil perteneciente a la Clase Hydrozoa, que vive sobre las conchas donde habitan los cangrejos ermitaños de la especie *Pagurus longicarpus* (Frank *et al.*, 2001). Presenta un plan corporal simple compuesto de tres tejidos principales pólipos, mata estolonial y cavidad gastrovascular (Frank *et al.*, 2001), siendo frecuentemente utilizado como modelo cnidario de investigación en ecología, biología del desarrollo, inmunología comparativa y genética molecular (Frank *et al.*, 2001). Esta especie presenta un gran potencial como modelo biológico para evaluación toxicológica de agentes contaminantes debido a su plan corporal simple con una única cavidad gastrovascular, tipo de vida sésil y colonial, lo que facilita el contacto de xenobióticos con el organismo e incrementa la absorción de estos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo y cuidados de *H. symbiolongicarpus*

El cultivo de *H. symbiolongicarpus* del Instituto de genética de la Universidad Nacional de Colombia se originó de una colecta en Woods Hole, Massachusetts (USA), entre los años 2009 y 2010. Fragmentos de 0,5-2 cm² de colonias que crecían en las conchas ocupadas por los cangrejos ermitaños se plantaron a láminas de vidrios numeradas y se mantuvieron en su lugar con bandas elásticas para facilitar su adhesión natural a las láminas. Las bandas elásticas fueron posteriormente retiradas después de que las colonias se adhirieron a la lámina. Las láminas con el tejido se mantuvieron en cajas portaláminas de acrílico inmersas en acuarios de 10 a 35 litros con agua marina artificial (Agua Marina Artificial: AMA; Salinidad: ~1,023 g/L, pH: ~8,30, Temperatura: 18-22 °C, Sal: Instant Ocean Sea Salt <http://www.instantocean.com>). El AMA en los tanques se mantuvo recirculando con bombas de 150-300 Lt/h de poder. Los animales fueron alimentados *ad libitum* con nauplios de *Artemia salina* de 48 h post-eclosión tres veces por semana. Para los experimentos de exposición

se usaron animales silvestres de *H. symbiolongicarpus* con los códigos de identificación HWB87 (dos réplicas), HWB29 (cuatro réplicas), HWB35 (cuatro réplicas) y HWB39 (cuatro réplicas).

Preparación de disoluciones de prueba de WBM para exposición

Se realizaron mezclas de AMA y LPPs tipo WBM 9:1 (Sil *et al.*, 2012), el cual tenía la siguiente formulación para un volumen total de 350 mL: 0,22 % Goma de Xanthan (Producto: Duovis), 0,63 % Celulosa polianiónica (Producto: POLIPAC UL), 0,83 % Copolímero de ácido acrílico (Producto: IDCAP), 1,75 % inhibidor de poliaminas (Producto: Kla-Stop), 2,33 % DRILLZONE, 9,79 % NaCl, 12,63 % Barita, 89,28 % agua marina. La mezcla se dejó reposar por una hora hasta que se formaron la fase líquida (FL), la fase de suspensión particulada (FSP) y la fase sólida (FS). Tanto la FL y FSP fueron decantadas y usadas como solución de prueba. A partir de la FL y FSP se realizaron ensayos de exposición en *H. symbiolongicarpus* al 100 % de concentración v/v y 50 % de concentración de v/v con AMA. El pH fue equilibrado con soluciones de NaOH y HCl a concentraciones de 1 M, 0,1 M y 0,01 M hasta llegar al pH de los acuarios (8,15 – 8,40).

Experimentos de exposición

Se realizaron dos experimentos de exposición a LPP, empleando como solución de prueba la FL y FSP obtenida de la mezcla de AMA con LPP en *H. symbiolongicarpus*, para identificar efectos adversos a nivel macroscópicos durante y después de la exposición. El primer experimento empleó el 100 % de concentración de la solución de prueba y dos horas de exposición continuas para observar los efectos adversos durante la fase de exposición. En el segundo experimento se empleó el 50 % de concentración de la solución de prueba con una mezcla adicional 1:1 AMA y LPP y 90 min de exposición continua, para la observación de los efectos adversos en la fase de recuperación luego de la exposición a los LPPs. La disminución en el tiempo de exposición y concentración se realizó para garantizar la supervivencia de las colonias durante todo el experimento, ya que la fase de recuperación se estableció hasta 72h después de la exposición. Para el primer experimento fueron empleadas dos réplicas de la colonia HWB87 (Tratamiento y Control). En el segundo experimento se decidió ampliar la cantidad de individuos y replicas para garantizar la estabilidad del fenotipo descrito. En total se utilizaron 12 réplicas de tres individuos diferentes HWB29, HWB35 y HWB39, cuatro por cada uno. Dos réplicas de cada individuo se utilizaron en el tratamiento y las otras dos réplicas de cada individuo fueron utilizadas para el control.

En ambos ensayos se determinaron cambios morfológicos y morfométricos a partir de imágenes tomadas antes del inicio del experimento, durante el tiempo de exposición cada 10 a 15 min y después de la exposición únicamente

en el segundo experimento a las 24 h, 48 h y 72 h con un estereomicroscopio Carl Zeiss® Stemi 2000C acoplado a una cámara AxioCam® Erc 5s. Las imágenes fueron procesadas con el programa Adobe® PhotoShop™ CS3, para las mediciones morfométricas de área de la colonia, diámetro de los pólipos, longitud de los tentáculos (Fig. 1) y cuantificación de número de pólipos por colonia. El diámetro de los pólipos se midió en cinco pólipos por imagen seleccionados de forma aleatoria, mientras que la longitud de los tentáculos se midió sobre diez tentáculos de cinco pólipos diferentes por colonia, con la condición de que los tentáculos se encontraran en posición perpendicular al eje del pólipo o posición paralela a la mata estolonada para poderlo medir desde la base hasta el punto más distal (Fig. 1). Cada fotografía fue escalada de píxeles (Píxeles por pulgada, ppi) a distancias métricas (mm) usando papel milimetrado en el fondo, para prevenir errores en el cálculo y mejorar la normalización de las comparaciones estadísticas.

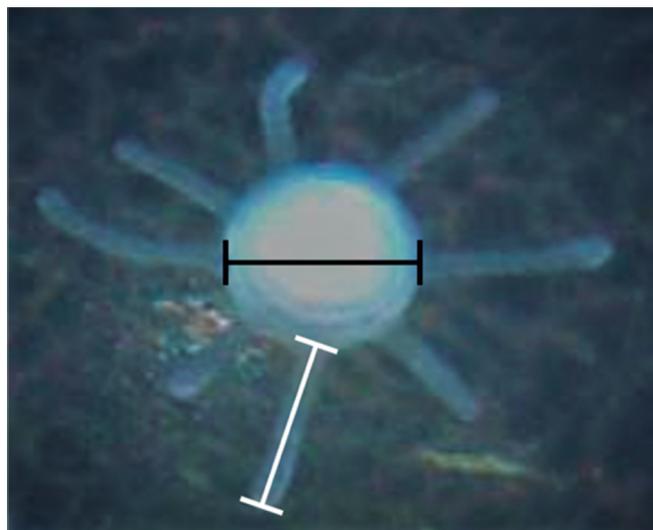


Figura 1. Mediciones realizadas a longitud de los tentáculos (Línea blanca) y diámetro de pólipos (Línea negra). Las imágenes fueron escaladas a mm.

Análisis estadísticos

A los conjuntos de datos se les realizaron pruebas de normalidad y homocedasticidad para determinar el tipo de pruebas estadísticas a utilizar. Se realizaron comparaciones pareadas de medias entre el control y tratamiento mediante pruebas T-Student y pruebas de Fisher en los casos en que se cumplía con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Pruebas Lillie Fors y Bartlett), de lo contrario se aplicaron pruebas de U-Mann Whitney y rangos de Wilcoxon cuando los grupos no presentaban normalidad, para determinar la significancia estadística entre los grupos de comparación.

Los datos morfométricos fueron graficados en el programa R versión 3.0.1 (Ripley, 2001) con el paquete gráfico Beanplot (Kampstra, 2008), el cual gráfica la distribución de los datos

con suavizado Gaussiano y SJ-dpi, mostrando las líneas de promedio general y por grupos.

RESULTADOS

Cambios morfológicos y morfométricos durante la exposición a WBM

Diferencias altamente significativas y efectos adversos fueron evidenciadas en la exposición hiperaguda a WBM en colonias de *H. symbiolongicarpus* (Fig. 2). El registro fotográfico evidenció un aumento en la circunferencia y rigidez de los pólipos, retracción de los tentáculos con respecto al estado inicial, inmediatamente después del contacto de las colonias a WBM, como se observa en la imagen (Fig. 2a). Esas condiciones se mantuvieron durante todo el tiempo de exposición que abarcó un total de 2 horas y en ningún momento los pólipos de las colonias expuestas cambiaron de posición o forma a la registrada previo a la exposición. Una vez identificado este efecto de hinchazón de los pólipos y retracción de los tentáculos, se midió el diámetro de los pólipos y la longitud de los tentáculos antes y durante el

tiempo de exposición para determinar si los cambios eran estadísticamente significativos (Fig. 2b).

Los resultados de comparación de medias para ambas mediciones morfométricas fueron altamente significativos (Longitud de tentáculos $p = 3,51 \times 10^{-14}$; diámetro de pólipos $p = 1,89 \times 10^{-18}$) y se pudo constatar con el posicionamiento de la media del grupo tratamiento con respecto al control y la media de mismo grupo antes de iniciar la exposición (Fig. 2b). En el tiempo 0 (pre-exposición), los valores de medias para el control y tratamiento en la longitud de los tentáculos y diámetro de pólipos estuvieron cercanos a los 0,2 mm (200 μm). En contraste durante el tiempo de exposición, las colonias expuestas mostraron un incremento hasta de 0,3 mm (300 μm , 1,5 veces mayor al estado inicial) para el diámetro del pólipo y una disminución cercana a los 0,05 mm (50 μm , una reducción del 75 % con respecto al estado inicial) en la longitud de los tentáculos para las medias respectivamente. Este primer conjunto de datos refleja que los lodos de perforación tipo WBM pueden generar efectos adversos inmediatos en altas concentraciones con afectación en tres aspectos fundamentales de las colonias de *H. symbiolongicarpus* que son hinchazón e inmovilidad de pólipos y retracción de tentáculos disminuyendo la supervivencia de las colonias expuestas.

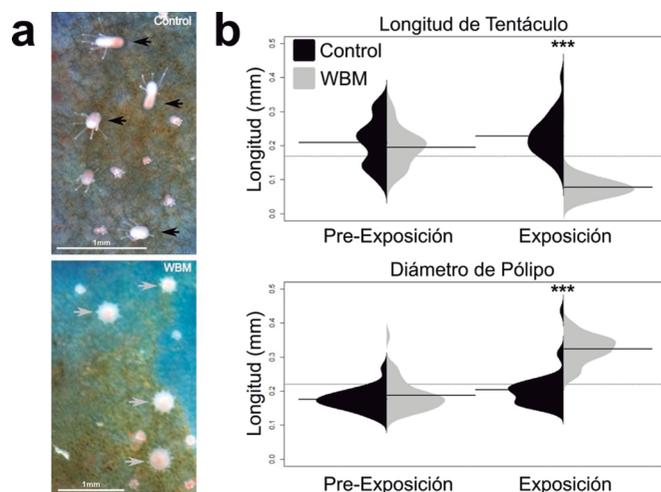


Figura 2. Resultados morfológicos y morfométricos a la exposición hiperaguda de WBM en colonias de *H. symbiolongicarpus*. (a) Imágenes de colonia control (Imagen superior, flechas de color negro) y colonia expuesta (Imagen inferior, flechas de color gris) a los 30 min de exposición a 100 % de FSP de WBM. Las flechas permiten enfocar los cambios en los pólipos seleccionados, notando una clara diferencia morfológica entre las condiciones de tratamiento. (b) Comparación de valores morfométricos para longitud de tentáculos (Gráfica superior, $n = 160$) y diámetro de pólipos (Gráfica inferior, $n = 80$) antes de la exposición (Pre-Exposición) y durante la exposición (Exposición). Las distribuciones de datos de color negro corresponden al control, mientras que las distribuciones de color gris corresponden al tratamiento. Las líneas punteadas muestran la media general de todos los datos; mientras la línea sólida en cada gráfica de distribución corresponde a la media grupal. Para ambas mediciones fue posible determinar diferencias altamente significativas cuando las colonias estaban expuestas a WBM, utilizando pruebas de significancia T-Student, Fisher, U-Mann Whitney y rangos de Wilcoxon (Significativo * $p < 0,05$, muy significativo ** $p < 0,01$ y altamente significativo *** $p < 0,001$).

Cambios morfológicos y morfométricos post-exposición a WBM

El segundo experimento se realizó con colonias más pequeñas, menor tiempo de exposición y la mitad de la concentración usada durante el primer experimento para observar si existen efectos adversos post-exposición (o fase de recuperación) en las colonias hasta las 72 h después del contacto con WBM. Los resultados mostraron diferencias significativas a las 72 h post-exposición en las medidas relacionadas con la biomasa de las colonias (Fig. 3). El primer efecto adverso apreciable en las colonias fue una reducción en el área total de la mata estolonial cuando se compararon las colonias control con las colonias expuestas. La colonia control llegó a perder un 12 % de área (de 28 mm^2 a 25,1 mm^2) al término del experimento (72 h), mientras en la colonia tratada la reducción fue de 40 % (de 24,9 mm^2 a 14,8 mm^2) al término del experimento (Fig. 3a). El conteo de pólipos por colonia mostró una disminución significativa en las colonias expuestas. En las imágenes mostradas, la colonia control tenía inicialmente (0 min) 22 pólipos, los cuales aún eran visibles y viables 19 al finalizar el experimento (72 h), teniendo sólo una de pérdida tres pólipos (14 %). En contraste, la colonia expuesta presentó una disminución de pólipos del 50 % (18 pólipos iniciales a los 0 min, nueve pólipos sobrevivientes a las 72 h post-exposición), siendo mucho mayor la pérdida de pólipos con respecto al control (Fig. 3a).

Al comparar las medias para los valores morfométricos de todas las colonias empleadas ($n = 6$ control, $n = 6$ tratamiento) del área de la colonia y cantidad de pólipos

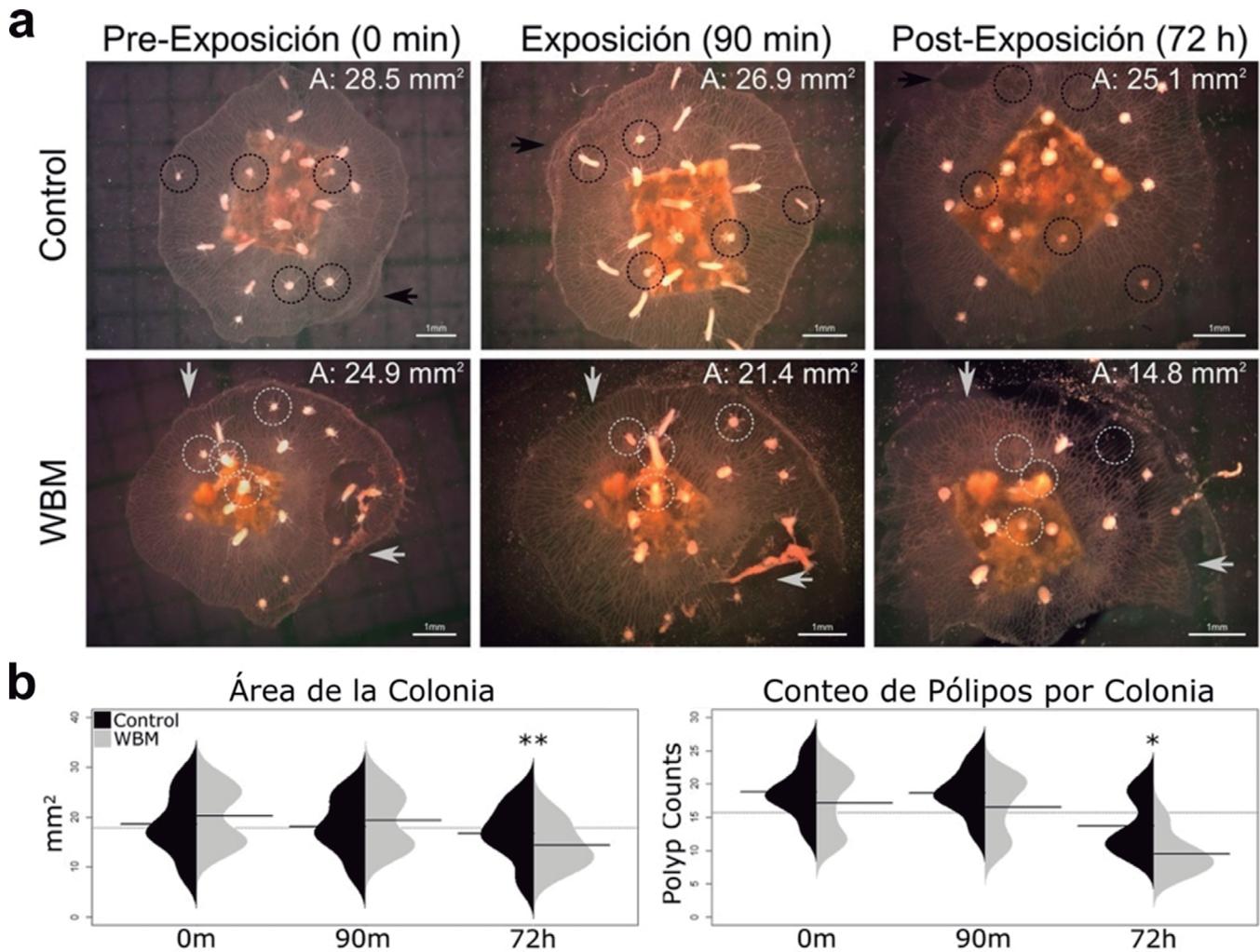


Figura 3. Resultados morfológicos y morfométricos a después de la exposición hiperaguda de WBM en colonias de *H. symbiolongicarpus*. (a) Imágenes de colonia expuesta (Imágenes inferiores, flechas y círculos de color gris) y colonia control (Imágenes superiores, flechas y círculos de color negro) a los 0 min, 90 min (tiempo máx. exposición a WBM) y 72 h (Tiempo máx. de recuperación después de los 90 min de exposición a WBM) a 50 % de FSP de WBM. Las flechas permiten ubicar el posicionamiento de la colonia en el campo fotográfico, mientras los círculos punteados indican el seguimiento de los pólipos a lo largo del tiempo. La exposición a WBM genera una disrupción en los tejidos (mata estolonar y disminución en la cantidad de pólipos), haciendo que se pierda las condiciones iniciales de salud en la colonia. (b) Comparación de valores morfométricos para área de la colonia (Gráfica izquierda) y cantidad de pólipos por colonia (Gráfica derecha) antes de la exposición (0 min), durante la exposición (90 min) y después de la exposición (72 h). Se emplearon pruebas de significancia T-Student, Fisher, U-Mann Whitney y Rangos de Wilcoxon, con un $n = 12$. (Significativo * $p < 0,05$, muy significativo ** $p < 0,01$ y altamente significativo *** $p < 0,001$).

por colonia, la primera medida mostró diferencias muy significativas ($p < 0,01$) a las 72 h post-exposición, mientras la segunda medida mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) a las 72 h post-exposición (Fig. 3b). Las áreas de las colonias tenían una media inicial cercana a los 20 mm², la cual se mantuvo hasta el final del tiempo de exposición sin mayores cambios (90 min). Al comparar con los valores de media al final del tiempo de recuperación 72 h (post-exposición), la media de las colonias tratadas llegó a estar cerca de los 10 mm², mostrando cerca de un 50 % de reducción media de la mata estolonar, muy parecido a lo constatado en las imágenes (Fig. 3a). De igual manera ocurrió con la cantidad de pólipos por colonia (Fig. 3b),

donde el valor de media inicial y al término del tiempo de exposición (0 y 90 min) estuvo alrededor de los 16 pólipos por colonia, mientras que al finalizar el tiempo de recuperación la cantidad media de pólipos sobrevivientes por colonia estuvo cercana a los ocho pólipos, siendo una reducción también cercana al 50 %. Estos análisis en el tiempo de recuperación (post-exposición) permiten generalizar que existe un efecto adverso a la exposición a WBM en las colonias de *H. symbiolongicarpus*, evidenciado en una pérdida de tejidos a nivel de pólipos y mata estolonar. Adicionalmente fue posible observar en el tiempo post-exposición dos fenómenos, la presencia de pequeñas manchas rojas localizadas en el lugar donde anteriormente

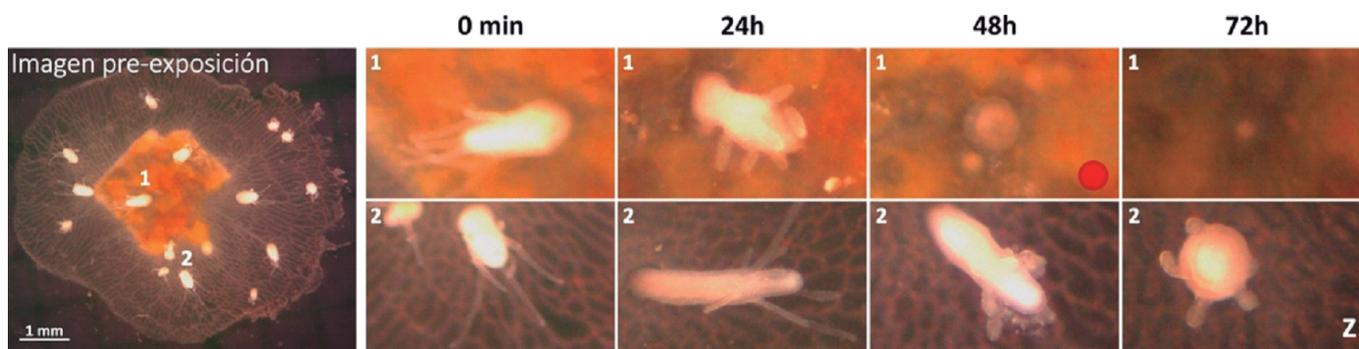


Figura 4. Observaciones adicionales morfológicas en pólipos individuales de colonia expuesta a WBM. (1) Pólipos que se va desintegrando pasadas las horas 48 h después de la exposición, donde se evidencia la presencia de una mancha roja (Izquierda superior del punto rojo). (2) Pólipos individuales que reflejan el cambio de la visualización elástica y suave de los tentáculos a las 24 h, hasta llegar a una retracción con formas rugosas similares a “Z” después de las 48 h y en 72 h. (Izq) Vista total de la colonia a 0 min antes de la exposición a WBM.

se encontraba un pólipo debido probablemente al proceso de degradación de este, y una deformación en los tentáculos en forma de “Z” y ligeramente retraídos (Fig. 4).

En conjunto, los resultados morfológicos y morfométricos establecen un patrón de efectos adversos “hiperagudos” durante el tiempo de exposición y agudos durante el tiempo de recuperación (72 h post-exposición). Los efectos adversos hiperagudos se resumen en retracción de los tentáculos, hinchazón de los pólipos y disminución de la movilidad sincrónica de la colonia evidenciada en la rigidez de los pólipos. Por su parte, los efectos adversos agudos en la fase de recuperación están generalizados hacia la pérdida de tejidos (pólipos y mata estolonial), deformación de los tentáculos y aparición de manchas rojas en los lugares donde se encontraban pólipos.

DISCUSIÓN

Diferentes cambios morfológicos y lesiones tisulares fueron descritas como efectos adversos a la exposición a la fase de suspensión particulada de WBM. Las alteraciones en

las colonias fueron diferentes durante la fase de exposición y recuperación. Durante la fase de exposición, los efectos adversos fueron observados sobre los pólipos, mientras en la fase de recuperación los efectos adversos se observaron en la mata estolonial y pólipos, llevando en ambos casos a pérdida de biomasa.

Experimentos de exposición realizados en otras especies de cnidarios, específicamente corales, reportaron efectos adversos similares a los registrados en *H. symbiolongicarpus*, tales como incremento en la circunferencia del pólipo, pérdida de tejido y muerte de colonias completas (Tabla 1) (Thompson Jr *et al.*, 1980). Las especies *M. annularis* y *A. agaricites* mostraron un patrón fenotípico con muerte de tejido e incremento en la circunferencia del pólipo, este último sólo se registró en *M. annularis*, siendo un efecto adverso muy similar al observado en *H. symbiolongicarpus* (Tabla 1). La retracción de tejido fue una condición frecuente en las especies de cnidarios. En cinco especies fue posible ver una retracción total a una exposición del 3,16 % de concentración entre las 24 h y 48 h, mientras en *A. cervicornis* la retracción de los pólipos fue inmediata, similar a la

Tabla 1. Cambios morfológicos reportados en siete especies de corales expuestas a WBMs en fase aguda hasta 96 h en concentraciones de 1 %, 3,16 % y 10 % (Thompson *et al.*, 1980).

Especie	Clase / Familia	Incremento en tamaño del pólipo	Retracción de Pólipos	Secreción de moco	Letalidad
<i>Porites divaricata</i>	Anthozoa / Poritidae	No	Total, a 24 h, 3,16-10 %	Si	No murieron pólipos
<i>Porites furcata</i>	Anthozoa / Poritidae	No	Total, a 24 h, 3,16-10 %	Si	No murieron pólipos
<i>Porites astreoides</i>	Anthozoa / Poritidae	No	Total, a 24 h, 3,16-10 %	Si	No murieron pólipos
<i>Montastrea annularis</i>	Anthozoa / Merulinidae	Si a las 24 h, 10%	Total, a 42 h, 1-3,16-10 %	Si	Tejido empezó a desintegrarse a las 65 h 10 %, 70 % colonia muerta
<i>Acropora cervicornis</i>	Anthozoa / Acroporidae	No	Total, a 1 h, 3,16-10 %	Si	No murieron pólipos
<i>Agaricia agaricites</i>	Anthozoa / Agariciidea	No	No	Si, muchísimo	Colonias empezaron a morir a 41 h, 100 % colonia muerta a 65 h
<i>Dichocoenia stokesii</i>	Anthozoa / Meandrinidea	No	No	No	No
<i>Hidractinia symbiolongicarpus</i>	Hydrozoa / Hydractiniidae	Si, Inmediatamente al contacto	Retracción total de tentáculos	No	Pólipos y mata estolonial muerta a las 72 h.

retracción de tentáculos inmediata en *H. symbiolongicarpus*. Por otro lado, seis de los siete corales (Excepto *D. stokesii*) secretaron moco como parte de su respuesta fisiológica de estrés a la exposición por WBM, aunque este aspecto no fue observado en *H. symbiolongicarpus*.

Experimentos de exposición de largo plazo (84 días) con el coral de aguas profundas *Lophelia pertusa*, evidenciaron patrones fenotípicos similares a los reportados en las especies de cnidarios mencionadas (Larsson *et al.*, 2013). Con una exposición a 2,5 % mg/ml de WBM, la retracción de los pólipos fue del 80 %, la tasa de crecimiento disminuyó un 50 %, la secreción de moco incrementó en un 32 % y solo el 2,2 % de los pólipos murieron a los 84 días, causando efectos adversos crónicos parecidos a los observados en exposiciones agudas.

La evidencia y datos observados en las especies de cnidarios muestran que existe irritación tisular en exposición aguda y crónica a WBM. En otros invertebrados marinos como bivalvos fueron reportados afectaciones en órganos como gónadas y branquias, sistema digestivo en experimentos de larga duración con exposición continua a WBM (Cranford *et al.*, 1999). En vieiras *Placopecten magellanicus* se observó un incremento del 20 % al 60 % de peso de tejido seco en las gónadas y un aumento exacerbado entre 200 % y 250 % del tejido seco del sistema digestivo después de 72 días de exposición (Cranford *et al.*, 1999); en organismos de la especie *Pecten maximus* se observaron diferencias significativas y un incremento en el peso seco del sistema digestivo (no se reportaron valores exactos de peso), después de 21 días de exposición a WBM al 2 % de concentración (Bechmann *et al.*, 2006). En los mejillones *Mytilus edulis*, el efecto adverso fue visualizado en branquias y células del sistema digestivo (Bechmann *et al.*, 2006). Las células digestivas incrementaron su tasa de formación vacuolar, mientras en las branquias se observó una mayor cantidad de células mucosas (Bechmann *et al.*, 2006). En organismos Vertebrados como los bacalao *Gadus morhua*, los resultados microscópicos de las branquias mostraron varias anomalías en el tejido epitelial de las larvas, como lo son engrosamiento de filamentos branquiales, malformaciones en los filamentos y presencia de aneurismas branquiales en exposición crónica a barita y WBMs (Bechmann *et al.*, 2006). Por otra parte, a trabajadores de las plataformas petroleras se les ha caracterizado los riesgos ocupacionales si se exponen a WBM, los cuales incluyen irritación e inflamación en la piel, dermatitis, irritación en las mucosas entre otros síntomas relacionados a la exposición aguda (Broni-Bediako y Amorin, 2010).

Las alteraciones reportadas por exposición a WBMs en varios organismos animales de grupos taxonómicos variados muestran una generalidad en afecciones sobre tejidos y órganos de contacto como lo son, inflamación, irritación y procesos de desintegración tisular en los casos

más severos tanto en fases crónicas como agudas de exposición. Particularmente, los tejidos sobre los que se observan las alteraciones son de tipo endoteliales, como en el caso de los cnidarios que son organismos con una alta proporción de endotelios, el sistema digestivo de moluscos o las branquias en peces, sin dejar de lado la irritación en los tejidos de mucosas en humanos. También fue posible observar niveles de letalidad en organismos coloniales, donde la pérdida de pólipos y por lo tanto de biomasa fue algo generalizado, en los casos donde la dosis de exposición a WBM fue alta, como los reportados en este documento.

CONCLUSIONES

Se establecieron efectos adversos por exposición hiperaguda de los lodos de perforación petrolera base agua (WBM) en *H. symbiolongicarpus*. Las observaciones morfológicas fueron constantes durante los experimentos y se caracterizaron por una retracción de los tentáculos y engrosamiento de los pólipos durante la fase de exposición, pérdida de tejidos a nivel de la mata estolonar y reabsorción de los pólipos en la fase de recuperación, acompañado de una malformación de los tentáculos y aparición de masas o puntos rojos en la mata estolonar. Los resultados morfométricos fueron consistentes con las observaciones morfológicas y mostraron significancia estadística en las comparaciones con el control. Las distancias de longitud del tentáculo y diámetro del pólipo validaron las observaciones morfológicas de retracción de los tentáculos y engrosamiento del pólipo, además la medición de área total de la mata estolonar y conteo de pólipos por colonia también evidenciaron la pérdida de biomasa. Los efectos adversos fueron consistentes con las reportadas en diversos organismos expuestos a WBM (Bechmann *et al.*, 2006; Edge *et al.*, 2016; Thompson Jr *et al.*, 1980), como lo son la retracción de tejidos, la irritación tisular y disminución de la biomasa. Adicionalmente, es importante destacar el potencial de *H. symbiolongicarpus* como modelo biológico para realizar pruebas de agentes contaminantes en ecosistemas marinos con efecto tóxico en los organismos, debido a su simplicidad en el plan corporal y cultivo bajo condiciones de laboratorio. Estas características permitieron mejorar los parámetros de exposición con mezclas completas de prueba de WBM, ampliar el área total de exposición en tejidos biológicos a WBM, los cuales son básicamente epitelios, facilitando mecanismos de absorción de los xenobióticos y mejorar las probabilidades de observación de efectos adversos.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Luis Fernando Cadavid y grupo de Inmunología Evolutiva e Inmunogenética por su asesoría científica: Henry José Rodríguez Valbuena, Alejandra Zarate Potes, Catalina Palacios, Javier Andrés López, Juan Sebastián Lugo Ramos, Rossy Johana Fajardo Castro, Jhon Alexander Galindo, Iván Darío Ocampo, Iván Aurelio Paéz Gutiérrez, Rita Mercedes Baldrich Ferrer y Blanca Elvira Schöeder López. A las instituciones financiadoras de reactivos y presupuesto para estudiantes de este proyecto Instituto Colombiano del Petróleo y ECOPEPETROL, en especial a Diego Gil y Marlon Córdoba por involucrarse en el proceso de recolección de datos. Igualmente, COLCIENCIAS por financiar reactivos y rubros para estudiantes. Un especial agradecimiento a la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá y el Instituto de Genética por brindarnos el espacio para realizar los experimentos y poder mantener los cultivos de *Hydractinia symbiolongicarpus*.

REFERENCIAS

- Bakke T, Klungsøyr J, Sanni S. Environmental impacts of produced water and drilling waste discharges from the Norwegian offshore petroleum industry. *Mar Environ Res.* 2013;92:154–69. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.09.012>
- Bechmann RK, Westerlund S, Baussant T, Taban IC, Pampanin DM, Smith M, *et al.* Impacts of drilling mud discharges on water column organism and filter feeding bivalves. Stavanger, Noruega: Elsevier; 2006.
- Bravo E. Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. Quito: Acción Ecológica; 2007. p. 1–61.
- Broni-Bediako E, Amorin R. Effects of Drilling Fluid Exposure to Oil and Gas Workers Presented with Major Areas of Exposure and Exposure Indicators. *Res J Appl Sci Eng Technol.* 2010;2(8):710–9.
- Caenn R, Darley HCH, Gray GR, editores. Chapter 11 - Drilling Fluid Components. Stavanger: University of Stavanger; 2011. p. 535–616.
- Cranford PJ, Gordon Jr DC, Lee K, Armsworthy SL, Tremblay G-H. Chronic toxicity and physical disturbance effects of water- and oil-based drilling fluids and some major constituents on adult sea scallops (*Placopecten magellanicus*). *Mar Environ Res.* 1999; 48(3):225–56. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(99\)00043-4](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(99)00043-4)
- Edge KJ, Johnston EL, Dafforn KA, Simpson SL, Kutti T, Bannister RJ. Sub-lethal effects of water-based drilling muds on the deep-water sponge *Geodia barretti*. *Environ Pollut.* 2016; 212:525–34. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.047>
- Frank U, Leitz T, Müller WA. The hydroid *Hydractinia*: a versatile, informative cnidaria an representative. *Bioessays.* 2001; 23(10):963–71. Doi: <https://doi.org/10.1002/bies.1137>
- Geehan T, Gilmour A, Guo Q. Tecnología de avanzada en el manejo de residuos de perforación. *Oilf Rev.* 2006: 54–67.
- Gettleson DA. Chapter 14 Effects of Oil and Gas Drilling Operations on the Marine Environment. En: Geyer RA, editor. *Marine Environmental Pollution, 1 Hydrocarbons.* Elsevier Oceanography Series; 1980. p. 371–411. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0422-9894\(08\)71391-6](https://doi.org/10.1016/S0422-9894(08)71391-6)
- Jagwani D, Kulkarni A, Shukla P, Ramteke DS, Juneja HD. PAH composition of Water Based Drilling Mud and drill cuttings in the offshore region, east coast of India. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2011; 87(5):550–5. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0340-x>
- Kampstra P. Beanplot: A Boxplot Alternative for Visual Comparison of Distributions. *J Stat Softw.* Citeseer. 2008;28(November):1–9. Doi: <https://doi.org/10.18637/jss.v028.c01>
- Larsson AI, van Oevelen D, Purser A, Thomsen L. Tolerance to long-term exposure of suspended benthic sediments and drill cuttings in the cold-water coral *Lophelia pertusa*. *Mar Pollut Bull.* 2013;70(1-2):176-188. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.02.033>
- Lepland A, Mortensen PB. Barite and barium in sediments and coral skeletons around the hydrocarbon exploration drilling site in the Træna Deep, Norwegian Sea. *Environ Geol.* 2007; 56(1):119–29. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00254-007-1145-4>
- Okaiyeto K, Nwodo UU, Okoli SA, Mabinya L V, Okoh AI. Implications for public health demands alternatives to inorganic and synthetic flocculants: bioflocculants as important candidates. *Microb Open.* 2016; 5(2):177–211. Doi: <https://doi.org/10.1002/mbo3.334>
- Pabortsava K, Purser A, Wagner H, Thomsen L. The influence of drill cuttings on physical characteristics of phytodetritus. *Mar Pollut Bull.* 2011; 62(10): 2170–80. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.07.002>
- Purser A. A Time Series Study of *Lophelia pertusa* and Reef Megafauna Responses to Drill Cuttings Exposure on the Norwegian Margin. *PLoS One.* 2015;10(7):1–29. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134076>
- Ripley BD. The R project in statistical computing. *MSOR Connect;* 2001(January):23–5.
- Ruiz M. Fluidos de perforación. Fundamentos teóricos y sistemas de Dowell. Schlumberger: Drill Fluids Serv GVZ; 2012.
- Sil A, Wakadikar K, Kumar S, Babu SS, Sivagami SPM, Tandon S, *et al.* Toxicity Characteristics of Drilling Mud and Its Effect on Aquatic Fish Populations. *J Hazardous, Toxic, Radioact Waste.* American Society of Civil Engineers. 2012;16(1):51–7.

Thompson Jr JH, Shinn EA, Bright TJ. Effects of drilling mud on seven species of reef-building corals as measured in the field and laboratory. Elsevier Oceanogr Ser. 1980;27(A):433-53. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0422-9894\(08\)71393-X](https://doi.org/10.1016/S0422-9894(08)71393-X)

Ulmer DC, Leisola MSA, Schmidt BH, Fiechter A. Rapid Degradation of Isolated Lignins by *Phanerochaete chrysosporium*. Appl Environ Microbiol. 1983;45(6):1795-801. Doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.45.6.1795-1801.1983>