

EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN EN PECES DEL GÉNERO *Orestias* EN LA BAHÍA INTERIOR DE PUNO, LAGO TITICACA

EFFECTS OF POLLUTION ON *Orestias* FISHES IN THE INNER PUNO BAY, LAKE TITICACA

Verónica Sierralta Irving Quinto César Gamarra
René Chura Hugo Treviño

RESUMEN

SIERRALTA V, QUINTO I, GAMARRA C, CHURA R, TREVIÑO H. 2020. Efecto de la contaminación en peces del género *Orestias* en la bahía interior de Puno, Lago Titicaca. Bol Inst Mar Perú. 35(2): 294-303.- El estudio histopatológico de peces del género *Orestias* procedentes de la bahía interior de Puno del lago Titicaca, se realizó en marzo y agosto del 2013, a raíz del evento de mortandad en marzo. El objetivo del trabajo fue determinar las posibles causas que provocaron la muerte de los peces y los daños que se produjeron en los tejidos de ellos, para lo cual se muestrearon 18 ejemplares, sus órganos fueron fijados en solución de formaldehído al 10% en buffer fosfato y procesados mediante técnicas histológicas. El análisis histopatológico reveló daños a nivel branquial, tales como: edema, congestión, telangiectasia, deformación, hiperplasia epitelial y fusión de las lamelas, las cuales se encuentran asociadas a elevadas concentraciones de nitrógeno amoniacal en el agua.

PALABRAS CLAVE: *Orestias*, histopatología, nitrógeno amoniacal, Puno, Perú

ABSTRACT

SIERRALTA V, QUINTO I, GAMARRA C, CHURA R, TREVIÑO H. 2020. Effects of pollution on *Orestias* fishes in the inner Puno Bay, Lake Titicaca. Bol Inst Mar Peru. 35(2): 294-303.- Between March and August 2013, we conducted a histopathological study of *Orestias* fishes from the inner Puno Bay in Lake Titicaca, following the mortality event that occurred in March. This work aims to determine the possible factors that caused the death of the fishes and the damage to their tissues. Therefore, we sampled 18 specimens whose organs were fixed in 10% formaldehyde solution in phosphate buffer and then processed by histological techniques. The histopathological analysis revealed damages at the gill level such as edema, congestion, telangiectasia, deformation, epithelial hyperplasia, and lamellae fusion, which are associated with high concentrations of ammonia nitrogen in the water.

KEYWORDS: *Orestias*, histopathology, ammonia nitrogen, Puno, Peru

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento y la rápida expansión de la población en la ciudad de Puno, ha generado, durante los últimos años, que la mayor parte de aguas residuales y afluencia de desagües sean descargados, sin tratamiento adecuado, en la bahía interior del lago Titicaca, originando una progresiva contaminación y eutrofización de sus aguas, por lo cual la calidad de las mismas se está deteriorando en forma acelerada. En los años 1980 ya se informaba sobre la severa eutrofización en esa zona del lago, evidenciada por altas temperaturas (aproximadamente 20 °C) y baja transparencia del agua (<0,5 m), elevada biomasa fitoplanctónica, sobresaturación de oxígeno en la capa superficial del agua y agotamiento en el fondo, producto del tratamiento rudimentario de aguas negras (NORTHCOTE *et al.*, 1991) lo que no ha cambiado en gran medida y está afectando la calidad de sus recursos hidrobiológicos, que se observa en la ocurrencia de mortalidades periódicas de peces en la bahía interior; particularmente cuando las condiciones de temperatura y oxígeno disuelto se ven fuertemente afectadas (DEJOUX & ILTIS, 1991).

1. INTRODUCTION

In recent years, the growth and rapid expansion of the population in the city of Puno has led to most of the wastewater and sewage being discharged, without adequate treatment, into the inner Bay of Lake Titicaca. This has resulted in the progressive pollution and eutrophication of its waters, which is causing their quality to deteriorate rapidly. In the 1980s, severe eutrophication was already reported in this area of the lake, as evidenced by high temperatures (approximately 20 °C) and low water transparency (<0.5 m), high phytoplankton biomass, oxygen oversaturation in the surface layer of the water, and depletion at the bottom, caused by rudimentary sewage treatment (NORTHCOTE *et al.*, 1991). This has not changed much and is affecting the quality of its hydrobiological resources, as observed in the occurrence of periodic fish mortalities in the inner bay; particularly when temperature and dissolved oxygen conditions are strongly affected (DEJOUX & ILTIS, 1991).

Cabe destacar que la bahía interior cuenta con una diversidad íctica nativa: *Orestias luteus* “carachi amarillo” y *Orestias agassizii* “carachi gris” y una especie introducida *Odontesthes bonariensis* “pejerrey” que son capturados por los pescadores (TREVIÑO *et al.*, 1984).

En cuanto a los factores químicos del agua, el amoníaco constituye un serio y común contaminante orgánico de los hábitats acuáticos, el cual ingresa a los cuerpos de agua de varias fuentes: efluentes de aguas residuales, residuos industriales, agrícolas y descomposición de residuos biológicos (RANDALL & TSUI, 2002).

En solución acuosa este compuesto se mide como nitrógeno amoniacal total (T-N) el cual representa la suma de amoníaco ionizado (NH_4) y no ionizado (NH_3), siendo más tóxico el amoníaco no ionizado bajo condiciones de pH alcalino – neutro y, relativamente menos tóxico el amoníaco ionizado en condiciones de pH ácido (RANDALL & TSUI, 2002; EDDY, 2005).

La toxicidad del amoníaco no ionizado se atribuye a que posee gran liposolubilidad y carece de carga iónica, de manera que se difunde fácilmente a través de las membranas branquiales de los peces. Por otra parte, la forma ionizada (NH_4) se hidrata y no permite que se difunda a través de dichas membranas.

Las branquias son los primeros órganos afectados por la toxicidad de diversos contaminantes presentes en el agua, existiendo una estrecha relación entre estos y el medio en el que viven los peces (AU, 2004). Entre sus funciones están: respiración, osmorregulación, balance ácido-base y excreción de desechos nitrogenados.

Los cambios histopatológicos han sido ampliamente utilizados como biomarcadores en la evaluación de la salud de peces expuestos a contaminantes tanto en trabajos de laboratorio como estudios de campo (SADAT *et al.*, 2016). Una de las grandes ventajas de usar biomarcadores histopatológicos en el monitoreo ambiental, es que permiten examinar órganos específicos, incluyendo branquias, riñón e hígado, los cuales son responsables de funciones vitales, tales como: respiración, excreción, acumulación y biotransformación de xenobióticos en el pez (CAMARGO & MARTÍNEZ, 2007).

Se han reportado cambios histopatológicos en branquias de peces como consecuencia de su exposición a diferentes tóxicos (TRIEBSKORN *et al.*, 2008). CHEZHIAN *et al.* (2012) afirmaron que el amonio a distintos niveles de pH induce cambios en las branquias de la carpa común *Cyprinus carpio*, tales como fusión de las lame-

Also, the inner bay has a diversity of native fish: *Orestias luteus* and *Orestias agassizii* and an introduced species *Odontesthes bonariensis* “silverside” which are caught by fishermen (TREVIÑO *et al.*, 1984).

Ammonia is a serious and common organic pollutant of aquatic habitats, which enters water masses from various sources: wastewater effluents, industrial and agricultural waste, and decomposition of bio-waste (RANDALL & TSUI, 2002).

In aqueous solution, this compound is measured as total ammonia nitrogen (T-N) which represents the sum of ionized (NH_4) and non-ionized (NH_3) ammonia. Non-ionized ammonia is more toxic under alkaline-neutral pH conditions and ionized ammonia is relatively less toxic under acidic pH conditions (RANDALL & TSUI, 2002; EDDY, 2005).

We assume that the toxicity of non-ionized ammonia is due to its high liposolubility and lack of ionic charge, so it easily diffuses through the gill membranes of the fishes. On the other hand, the ionized form (NH_4) is hydrated and does not allow it to diffuse through these membranes.

The gills are the first organs affected by the toxicity of various pollutants found in the water and there is a close relationship between these and the environment in which the fishes live (AU, 2004). Some of their functions are breathing, osmoregulation, acid-base balance, and excretion of nitrogenous waste.

When evaluating the health of fish exposed to pollutants in both laboratory and field studies, we have widely used histopathological changes as biomarkers (SADAT *et al.*, 2016). One of the great advantages of using them in environmental monitoring is that we can examine specific organs, including gills, kidneys, and liver, which are responsible for vital functions such as breathing, excretion, accumulation, and biotransformation of xenobiotics in fish (CAMARGO & MARTÍNEZ, 2007).

There are reports of histopathological changes in fish gills due to exposure to different toxics (TRIEBSKORN *et al.*, 2008). CHEZHIAN *et al.* (2012) stated that ammonia at different pH levels induces changes in the gills of the common carp *Cyprinus carpio*, such as secondary lamellae

las secundarias, edema, hiperplasia y proliferación de las células cloruro. SENTHAMIL *et al.* (2011) observaron alteraciones similares en las branquias del barramundi (*Lates calcifer*) sometido a níquel, mercurio y níquel más mercurio.

En los animales acuáticos, la homeostasis es mantenida por un factor importante, el pH y su incremento o disminución causa disturbios en el balance ácido-base, la regulación del ion y excreción de amoníaco (SCHLENK & BENSON, 2001).

En esta investigación se realizó el estudio histopatológico de peces carachi, asociando las lesiones encontradas con las condiciones de la calidad del agua de la bahía interior de Puno del Lago Titicaca.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Características del lugar de muestreo

La bahía interior del lago Titicaca está ubicada a 3819 msnm entre las coordenadas 15°50'34"S y 69°59'43"W con una extensión de 16,1 km² (Fig. 1), es somera (profundidad media de 2,7 m) y de poco flujo, sus aguas reciben altos ingresos de nutrientes provenientes de los desagües de la ciudad de Puno, lo que ha originado un ambiente severamente contaminado y eutrofizado, ya que esa ciudad cuenta con una laguna de estabilización ineficiente para el tratamiento de sus aguas residuales (colmatada, con tiempo de retención y condiciones climáticas desfavorables) sumado a ello el vertimiento directo de aguas residuales clandestinas (BELTRÁN *et al.*, 2015).

fusion, edema, hiperplasia, and chloride cell proliferation. SENTHAMIL *et al.* (2011) observed similar alterations in the gills of barramundi (*Lates calcifer*) exposed to nickel, mercury, and nickel plus mercury.

In aquatic animals, the increase or decrease of pH causes disturbances in the acid-base balance, ion regulation, and ammonia excretion (SCHLENK & BENSON, 2001).

This research involved the histopathological study of *Orestias* fishes, by associating the lesions found with the water quality conditions of the inner Puno Bay in Lake Titicaca.

2. MATERIAL AND METHODS

Characteristics of the sampling site

The inner bay in Lake Titicaca is located at 3,819 masl (12,529 ft) between 15°50'34"S and 69°59'43"W with an area of 16.1 km² (Fig. 1). It is shallow (mean depth of 2.7 m) and of low flow, its waters receive high inputs of nutrients from the drains of the city of Puno, which has created a severely polluted and eutrophicated environment since that city has an inefficient stabilization lagoon for the wastewater treatment (clogged, with retention time and unfavorable weather conditions). Also, the direct discharge of clandestine wastewater is listed as a problem (BELTRÁN *et al.*, 2015).

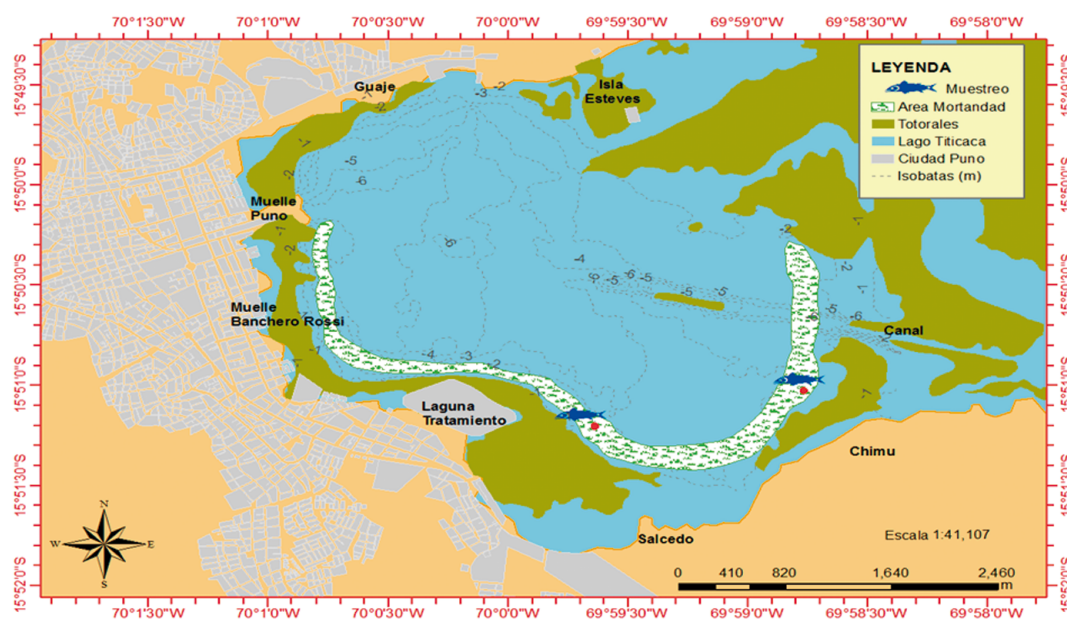


Figura 1.- Mapa de Bahía interior, Puno

Figure 1.- Map of the inner Puno Bay

Determinación de la calidad del agua

Se realizó la determinación físico-química del agua en marzo y agosto 2013, a bordo del BIC IMARPE VIII, para lo cual se tomaron *in situ* los parámetros pH y temperatura, utilizando un potenciómetro *Outlok* y un termómetro de mercurio, respectivamente.

La recolección de muestras de agua, para efectuar el análisis de oxígeno disuelto y nitrógeno amoniacal, se realizó con una botella Niskin de 5 litros de capacidad.

En el Laboratorio Continental del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) – Puno, se determinó el oxígeno disuelto según el método titulométrico de Winkler modificado (GRASSHOFF *et al.*, 1999), el nitrógeno amoniacal mediante la metodología de Nessler y nitrógeno total utilizando el método de digestión de persulfato.

Toma y procesamiento histológico

Se recolectaron 18 ejemplares de carachi gris *Orestias agassi* y carachi amarillo *O. luteus* con signos de boqueo intenso y nado errático, los cuales fueron transportados vivos al Laboratorio Continental del IMARPE – Puno, para ser sacrificados mediante el corte de la medula espinal y preservados en formalina tamponada al 10%. Dichas muestras se enviaron al Laboratorio de Patobiología Acuática de IMARPE – Callao para su procesamiento histológico utilizando la metodología propuesta por LUNA (1968). Los tejidos, cortados a 5 µm de espesor, fueron teñidos con Hematoxilina y Eosina de Harris y observados en un microscopio compuesto.

3. RESULTADOS

Calidad del agua

Los parámetros físico-químicos del agua registrados el 11 de marzo y 1 de agosto 2013 en la bahía interior del Lago Titicaca se aprecian en la Tabla 1. La temperatura fue mayor en marzo, ya que era época de verano. El pH se mantuvo por encima de 7 en ambos meses, presentándose depleción de oxígeno disuelto (0 mg/L) en marzo. El nitrógeno amoniacal se registró elevado en ambos meses.

Análisis histopatológico

En marzo fueron evidentes las lesiones en las branquias, observándose deformación, hiperplasia, fusión (Fig. 2) y telangiectasia focal de las lamelas secundarias (Fig. 3). En agosto se apreciaron lamelas edematosas, congestivas y con telangiectasia.

Determination of water quality

Between March and August 2013, we performed the physical-chemical determination of the water onboard the R/V IMARPE VIII, measuring the pH and temperature *in situ*, using an *Outlok* potentiometer and a mercury thermometer, respectively.

We used a 5-liter Niskin bottle to collect water samples for dissolved oxygen and ammonia nitrogen analysis.

At the IMARPE's Laboratory in Puno, we determined the dissolved oxygen according to Winkler's titration method (GRASSHOFF *et al.*, 1999), the ammonia nitrogen by Nessler's methodology, and the total nitrogen using the persulfate digestion method.

Collection and histological processing

We collected 18 specimens of *Orestias agassi* and *O. luteus* with signs of intense blockage and erratic swimming, which were transported alive to the IMARPE's Laboratory - Puno, to be sacrificed by cutting the spinal cord and preserved in 10% buffered formalin. These samples were sent to the Aquatic Pathobiology Laboratory at Headquarters for histological processing using the methodology proposed by LUNA (1968). The tissues, cut at 5 µm thickness, were stained with Harris' Hematoxylin and Eosin and observed in a compound microscope.

3. RESULTS

Water quality

Table 1 shows the physical-chemical parameters of the water recorded on March 11 and August 1, 2013, in the inner Bay in Lake Titicaca. The temperature was higher in March since it was the summer season. The pH remained above 7 in both months, with dissolved oxygen depletion (0 mg/L) occurring in March. Ammonia nitrogen was high in both months.

Histopathological analysis

In March, gill lesions were evident, with deformation, hyperplasia, fusion (Fig. 2), and focal telangiectasia of the secondary lamellae (Fig. 3). In August, we observed edematous and congestive lamellae with telangiectasia.

Tabla 1.- Valores de parámetros de calidad del agua de la Bahía interior del Lago Titicaca, marzo y agosto 2013

Table 1. Water quality parameter values for the inner bay in Lake Titicaca, March and August 2013

Parámetro / Parameter	Meses / Months					
	Marzo / March			Agosto / August		
	Valor mínimo / Minimum value	Valor máximo / Maximum value	Promedio / Average	Valor mínimo / Minimum value	Valor máximo / Maximum value	Promedio / Average
pH	7,81	7,85	7,80 ± 0,05	7,82	8,68	8,50 ± 0,17
Temperatura / Temperature (°C)	18,2	18,7	18,5 ± 0,16	11,4	13,2	12,2 ± 0,59
Oxígeno disuelto / Dissolved oxygen (mg/L)	0,00	1,30	0,90 ± 0,36	5,50	13,60	9,30 ± 2,70
Nitrógeno amoniacal / Ammonia nitrogen (mg/L)	1,50	2,00	1,70 ± 0,15	1,60	2,30	1,90 ± 0,15
Nitrógeno total / Total nitrogen (mg/L)	2,10	2,80	2,40 ± 0,21	2,32	3,45	2,90 ± 0,32

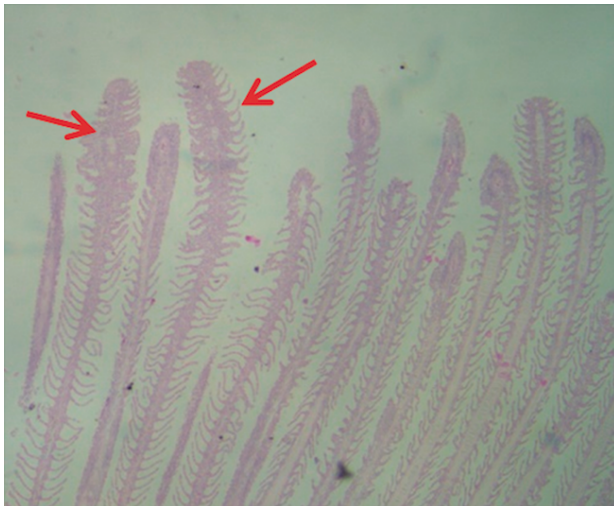


Figura 2.- Hiperplasia de las lamelas secundarias y fusión lamelar (flechas) (4X)

Figure 2. Hyperplasia of secondary lamellae and lamellar fusion (arrows) (4X)



Figura 3.- Telangiectasia en lamelas secundarias (flechas) (4X)

Figure 3. Telangiectasia in secondary lamellae (arrows) (4X)

Tabla 2.- Frecuencia y localización de parásitos en carachi gris *Orestias agassi* y carachi amarillo *O. luteus*

Table 2. Frequency and location of parasites in gray carachi *Orestias agassi* and yellow carachi *O. luteus*

Parásito / Parasite	Localización / Localization	Frecuencia / Frequency (%)
Trematode digeneo / Digestive trematode		
Metacercaria de <i>Diplostomum</i> sp.	Cerebro / Brain	11,0
Metacercaria	Branquias / Gills	5,5
Ciliado / Ciliated		
<i>Trichodina</i> sp.	Branquias / Gills	61,0
Mixosporideos / Myxosporeans	Riñón posterior / Rear kidney	16,6

Se registró poca presencia de parásitos ciliados *Trichodina* sp. cuya frecuencia de presentación fue 61% (Tabla 2, Fig. 4), se detectaron metacercarias (5,5%) enquistadas en el interior de la lamela primaria (Fig. 5). A nivel cerebral se hallaron de 1 a 3 metacercarias del trematode digeneo *Diplostomum* sp. (11%) en la cavidad ventricular, no provocando alteraciones en el tejido nervioso (Fig. 6).

En el riñón posterior se observaron esporas de mixosporideos en el lumen de los conductos colectores (Fig. 7) sin provocar alteraciones en la organización estructural del tejido.

There was little presence of ciliated parasites *Trichodina* sp. whose frequency was 61% (Table 2, Fig. 4), metacercariae (5.5%) were detected encrusted inside the primary lamella (Fig. 5). At the brain level, we found from 1 to 3 metacercariae of the digestive trematode *Diplostomum* sp. (11%) in the ventricular cavity, not causing alterations in the nervous tissue (Fig. 6).

We observed myxosporean spores in the lumen of the collecting ducts in the rear kidney (Fig. 7) without causing any alteration in the structural organization of the tissue.

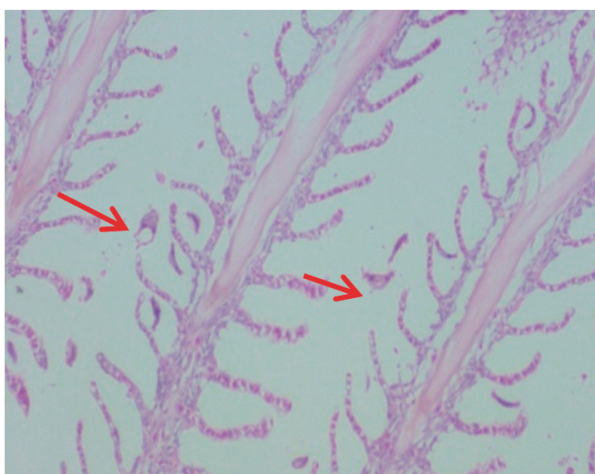


Figura 4.- *Trichodina* sp. en branquias (flechas) (20X)

Figure 4. *Trichodina* sp. in gills (arrows) (20X)

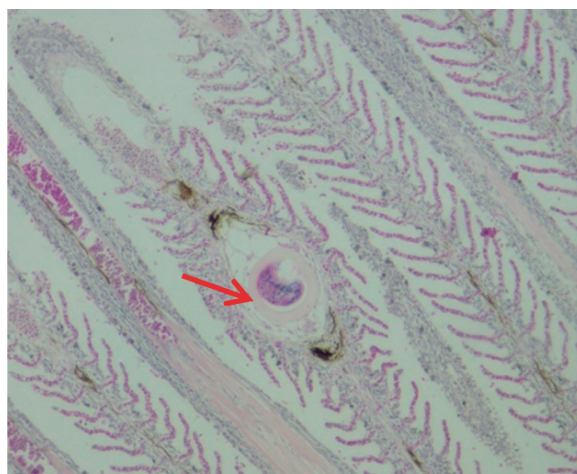


Figura 5.- Presencia de metacercaria en filamento branquial (flecha) 10X

Figure 5. Presence of metacercaria in gill filament (arrow) 10X

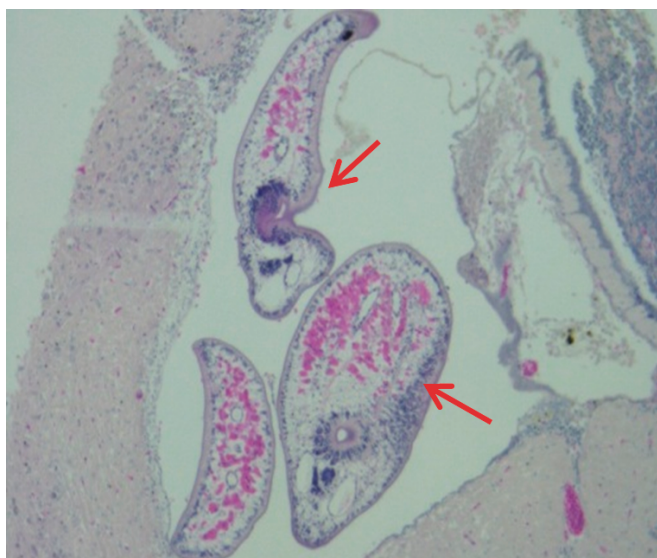


Figura 6.- Metacercarias de *Diplostomum* sp. en cavidad ventricular del tejido cerebral (flechas) 10X

Figure 6. Metacercariae of *Diplostomum* sp. in ventricular cavity of brain tissue (arrows) 10X

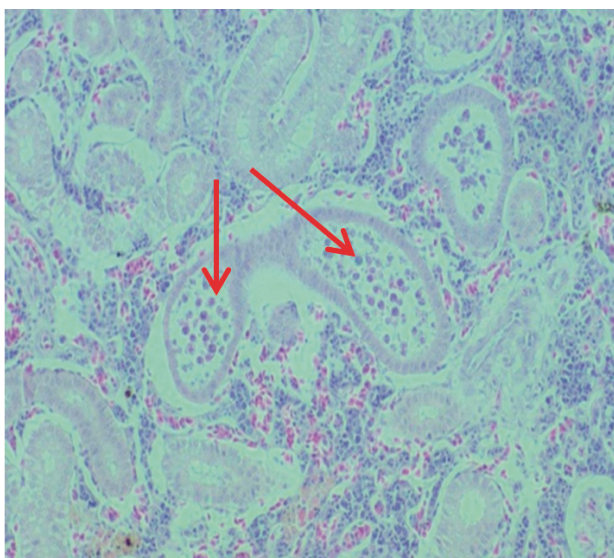


Figura 7.- Mixosporideos en el interior de conductos colectores del riñón (flechas) 20X

Figure 7. Myxosporeans inside kidney collecting ducts (arrows) 20X

4. DISCUSIÓN

El principal órgano de osmorregulación en peces son las branquias, que son altamente sensibles a muchos factores, tales como estrés, contaminantes y cambios en el ambiente (MUTHUKUMARAVEL & RAJARAMAN *et al.*, 2013). La absorción de los químicos tóxicos a través de ellas se incrementa por el aumento de permeabilidad al agua, de iones a través del epitelio branquial y por inhibición del intercambio de iones de las células cloruro (SENTHAMIL *et al.*, 2014).

Hemos descrito en tejido branquial edema, congestión, hiperplasia y fusión de las lamelas secundarias de *Orestias*. Daños similares fueron reportados por diversos autores (CHEZHIAN *et al.*, 2012; SENTHAMIL *et al.*, 2014; SADAT *et al.*, 2016; THURSTON *et al.*, 1984) quienes sometieron a peces a distintas concentraciones de amonio en el agua. La hiperplasia de las células epiteliales y fusión lamelar son un mecanismo de defensa que permite incrementar la distancia entre el ambiente externo y la sangre, actuando como barrera para la entrada de contaminantes (CAMARGO & MARTÍNEZ, 2007).

KIRK & LEWIS (1993) reportaron que las branquias de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* en presencia de 0,1 mg L⁻¹ de amoníaco durante 2 horas, exhibieron deformación de las lamelas. SMART (1976) manifestó que el rasgo característico de la exposición crónica de esta especie a dicho compuesto es la presencia de edema y telangiectasia de los capilares en las lamelas secundarias, siendo las mencionadas lesiones, similares a las encontradas en el presente estudio. Cabe destacar que el edema de las lamelas branquiales se considera como una respuesta de defensa ante agentes tóxicos (SADAT *et al.*, 2016).

Se han descrito alteraciones similares a las encontradas en nuestra investigación en peces expuestos a metales pesados, contaminantes orgánicos y después de la exposición aguda a insecticidas (SENTHAMIL *et al.*, 2014). KHOSHNOOD *et al.* (2011) apreciaron fusión lamelar, hiperplasia y necrosis epitelial después de la exposición a cloruro de mercurio.

En cuanto a los ectoparásitos hallados en branquias se evidenció leve infestación de *Trichodina* sp., constituyendo parte de la parasitofauna de carachi. Sin embargo, podría producirse epizootias si hubiese masiva infestación por este parásito (ROBERTS, 1981; PAPERNA, 1996).

4. DISCUSSION

Gills are the main organ of osmoregulation in fishes and are highly sensitive to many factors, such as stress, pollutants, and changes in the environment (MUTHUKUMARAVEL & RAJARAMAN *et al.*, 2013). Water permeability, ion permeability through the gill epithelium, and inhibition of chloride cell ion-exchange increase the absorption of toxic chemicals through the gills (SENTHAMIL *et al.*, 2014).

We have described edema, congestion, hyperplasia, and fusion of the secondary lamellae of *Orestias* in gill tissue. Similar damages were reported by several authors (CHEZHIAN *et al.*, 2012; SENTHAMIL *et al.*, 2014; SADAT *et al.*, 2016; THURSTON *et al.*, 1984) who exposed fish to different concentrations of ammonia in the water. Epithelial cell hyperplasia and lamellar fusion are a defense mechanism that allows increasing the distance between the external environment and the blood, acting as a barrier to the entry of pollutants (CAMARGO & MARTÍNEZ, 2007).

KIRK & LEWIS (1993) reported that the gills of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to 0.1 mg L⁻¹ ammonia for 2 hours, exhibited lamella deformation. SMART (1976) stated that edema and telangiectasia of capillaries in secondary lamellae are the characteristic features of chronic exposure of this species to this compound, being similar to those found in this study. It is worth mentioning that the edema of gill lamellae is considered a defense response to toxic agents (SADAT *et al.*, 2016).

Similar alterations to those found in our research have been described in fish exposed to heavy metals, organic pollutants, and after acute exposure to insecticides (SENTHAMIL *et al.*, 2014). KHOSHNOOD *et al.* (2011) observed lamellar fusion, hyperplasia, and epithelial necrosis following exposure to mercury chloride.

Regarding the ectoparasites found in gills, we found a slight infestation of *Trichodina* sp., constituting part of the *Orestias*' parasitic fauna. However, if a massive infestation by this parasite occurs, epizootics could be produced (ROBERTS, 1981; PAPERNA, 1996).

PAPERNA (1996) and RASHA *et al.* (2010) observed the presence of metacercariae in brachial filaments of tilapia fish, which is consistent with what was found in this study.

PAPERNA (1996) y RASHA *et al.* (2010) observaron en filamentos branquiales de tilapias, la presencia de metacercarias, lo cual coincide con lo encontrado en este estudio.

A nivel del cerebro se presentaron metacercarias del trematode digeneo *Diplostomum* sp., lo cual concuerda con lo reportado por primera vez por MUELLER (1972), quien apreció en *Orestias* del lago Titicaca, la deformación craneana provocada por las larvas de dicho parásito debido a la elevada infestación de las mismas. Sin embargo, en nuestra investigación, los mencionados parásitos produjeron una infestación leve y por ende no se apreciaron alteraciones macroscópicas en el cráneo, ni microscópicas en el tejido cerebral, circunscribiendo su localización a las cavidades ventriculares del encéfalo.

HECKMANN (1992) halló metacercarias de *Diplostomum mordax* en la cavidad craneana del carachi y pejerrey, localizándose en el cerebro, ventrículos y cerebelo; produciendo lesiones patológicas como hemorragia leve, necrosis de las células, inflamación e interrupción de las fibras nerviosas, concordando la ubicación intraventricular con lo observado en el trabajo que nos ocupa.

En el riñón posterior se apreciaron esporas de mixosporideos en el lumen de los túbulos colectores, lo cual coincide con lo registrado por otros autores en tejido renal de peces (DYKOVA & LOM, 1982; LANDSBERG, 1993; ABOWEI & EZEKIEL, 2011).

Cabe destacar que el evento de mortalidad que se produjo en el mes de marzo se debió a la anoxia e hipoxia sufrida por los peces, al haberse registrado reducidos niveles de oxígeno disuelto (0 a 1,3 mg/L) y temperatura elevada del agua, así como presencia de telangiectasia en las lamelas branquiales, lo cual concuerda con lo reportado por ROBERTS (1981), quien menciona que esta lesión disminuye la función respiratoria de los peces, sumándose a ella las altas temperaturas y bajos niveles de oxígeno disuelto en el agua, que incrementa la demanda metabólica del mismo, estresando a los peces y por ende, sobreviniendo la muerte del animal.

NORTHCOTE *et al.* (1991) mencionan que periódicamente las aguas de la bahía interior de Puno cercanas al fondo e incluso las superficiales próximas a la orilla occidental, presentan agotamientos severos de oxígeno disuelto, como sucedió en enero de 1981, año en que se registró valores menores a 3 mg/L de oxígeno disuelto en aguas superficiales y anoxia total a profundidades por debajo de 1 metro. Dicho suceso se relacionó con la mortandad de peces, especialmente del género *Orestias*.

At the brain level, we found metacercariae of the digestive trematode *Diplostomum* sp., which agrees with what was first reported by MUELLER (1972), who appreciated the cranial deformation caused by the larvae of this parasite in *Orestias* of Lake Titicaca, due to the high infestation of them. However, in our research, these parasites produced a mild infestation and therefore no macroscopic alterations were observed in the skull, nor microscopic alterations in the brain tissue, limiting its location to the ventricular cavities of the brain.

HECKMANN (1992) found metacercariae of *Diplostomum mordax* in the cranial cavity of *Orestias* and silverside, located in the brain, ventricles, and cerebellum. This produced pathological lesions such as slight hemorrhage, cell necrosis, inflammation, and interruption of the nerve fibers, coinciding with the intraventricular location observed in this study.

In the rear kidney, we observed myxosporean spores in the lumen of the collecting tubules, which coincides with what was recorded by other authors in fish renal tissue (DYKOVA & LOM, 1982; LANDSBERG, 1993; ABOWEI & EZEKIEL, 2011).

We should point out that the mortality event that occurred in March was due to anoxia and hypoxia suffered by the fishes, as reduced levels of dissolved oxygen (0 to 1.3 mg/L) and high water temperature were recorded, as well as the presence of telangiectasia in the gill lamellae, which agrees with what is reported by ROBERTS (1981), who mentions that this injury decreases the fish's respiratory function, coupled with high temperatures and low levels of dissolved oxygen in the water, which increases its metabolic demand, stressing the fish and therefore, resulting in the death of the animal.

NORTHCOTE *et al.* (1991) mention that periodically the waters of the inner Puno Bay, near the bottom and even the surface waters near the western shore, show severe dissolved oxygen depletion, as happened in January 1981, when values of less than 3 mg/L of dissolved oxygen were recorded in surface waters and total anoxia at depths below 1 meter. This event was related to fish mortality, especially of the genus *Orestias*.

5. CONCLUSIONES

El contenido de nitrógeno amoniacal en los efluentes urbanos constituye un factor deletéreo para la fauna acuática, debido al gran aporte de materia orgánica de desechos cuya descomposición deviene en hipoxia o anoxia en el agua.

Los daños en las branquias indican que los peces responden a los efectos directos de los contaminantes tanto como a los efectos secundarios causados por el estrés.

Agradecimientos

Los autores agradecen la participación de los profesionales Humberto Siguayro, Hilda Ninaraqui, Ernesto Lluja y Carmen Villanueva por su apoyo técnico-logístico durante el desarrollo del estudio.

5. CONCLUSIONS

The presence of ammonia nitrogen in the urban effluents constitutes a dangerous factor for the aquatic fauna, due to the great contribution of organic matter of waste whose decomposition results in hypoxia or anoxia in the water.

Gill damage indicates that fish respond to the direct effects of pollutants as well as to side effects caused by stress.

Acknowledgments

The authors would like to thank Humberto Siguayro, Hilda Ninaraqui, Ernesto Lluja, and Carmen Villanueva for their technical-logistical support during the development of the study.

REFERENCIAS / REFERENCES

- ABOWEI J, EZEKIEL E. 2011. A Review of Myxosporea, Microspora and Monogenea Infections in African Fish. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2 (5): 236-250.
- AU D. 2004. The application of histocytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 48: 817-834.
- BELTRÁN D, PALOMINO R, MORENO E, PERALTA C, MONTESINOS D. 2015. Calidad de agua de la bahía interior de Puno, Lago Titicaca durante el verano del 2011. *Revista Peruana de Biología*. 22(3): 335-340
- CAMARGO M, MARTINEZ C. 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*. 5 (3): 327-336.
- CHEZHIAN A, DWIVEDI S, KABILAN N. 2012. Histological changes induced by ammonia and pH on the gills of fresh water fish *Cyprinus carpio* var. *communis* (Linnaeus). *Asian J Anim Vet Adv.* 7: 588-596.
- DEJOUX C, ILLIS, A. 1991. El Lago Titicaca: Síntesis del Conocimiento Limnológico Actual. *Hisbol-ORSTOM*. 563-572 pp.
- DYKOVA I, LOM J. 1982. *Sphaerospora renicola* n. sp., a myxosporean from carp kidney, and its pathogenicity. *Z. Parasitenk.* 68: 259-268.
- EDDY F. 2005. Ammonia in estuaries and effects on fish. *J Fish Biol.* 67: 1495-1513.
- GRASSHOFF K, EHRHARDT M, KREMLING K. 1999. *Methods of seawater Analysis*. 3rd ed. Verlag Chemie Germany.
- HECKMANN R. 1992. Host records and tissue locations for *Diplostomum mordax* (metacercariae) inhabiting the cranial cavity of fishes from Lake Titicaca, Peru. *J. Parasitology*. 78 (3): 541-543.
- KHOSHNOOD Z, KHODABANDEH S, MOGHADDAM MS, MOSAFER S. 2011. Histopathological and pathomorphological effects of mercuric chloride on the gills of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, Fry. *Int J Nat Res Mar Sci.* 1: 23-32.
- KIRK R, LEWIS J. 1993. An evaluation of pollutant induced changes in the gills of rainbow trout using scanning electron microscopy. *Environ Technol.* 14:577-585.
- LANDSBERG J. 1993. Kidney myxosporean parasites in red drum *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae) from Florida, USA, with a description of *Parvicapsula renalis* n. sp. *Dis aquat Org.* 17: 9-16.
- LUNA L. 1968. *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. 3rd ed. New York: Mc Graw-Hill. 32 - 38 pp.
- MUELLER J. 1972. Cranial deformation in a fish resulting from intracranial parasitism by strigeid metacercariae. *J. parasitology*. 58 (1): 183-184.
- MUTHUKUMARAVEL K, RAJARAMAN P. 2013. A study on the toxicity of chromium on the histology of gill and liver of freshwater fish *Labeo rohita*. *Int J Pure Appl Zool.* 1: 122-126.
- NORTHCOTE G, MORALES D, LEVY A, GREAVEN S. 1991. Contaminación en el Lago Titicaca, Perú: Capacitación, investigación y manejo. West water Research Centre, University of British Columbia (Canada) – Instituto de Aguas Alto Andinas Universidad Nacional del Altiplano (Perú). 279 pp.
- PAPERNA I. 1996. Parasites, infections and diseases of fishes in Africa. *FAO. CIFA Technical paper.* 31: 1-220.
- RANDALL D, TSUI T. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Mar Pollut Bull.* 45: 17-23.
- RASHA M, EL-NOBI G, HASSANIN M, EL-HADY M, EL-BOUHY Z M. 2010. Study on some encysted metacercaria "Digenetic Trematodes" affecting gills of *Oreochromis niloticus*. 10 th. *Sci. Vet. Med. Zag. Conference*.
- ROBERTS R. 1981. *Patología de los peces*. 2da ed. Mundiprensa. Madrid, España. 366 pp
- SADAT E, KHARA H, PAJAND Z, RAHMANDEH M. 2016. Histopathological study of gill, kidney and liver of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897) and Stellate (*Acipenser stellatus* Pallas, 1811) exposed to sub lethal concentration of un-ionized ammonia UAN. *J. Parasit. Dis.* 40 (4): 1443-1450.

- SCHLENK D, BENSON W. 2001. Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts. Taylor and Francis, New York. 1-89 pp.
- SENTHAMIL SELVAN D, CHEZHIAN A, KABILAN N, SURESH KUMAR T. 2011. Synergistic impact of heavy metals (Ni and Hg) and histopathological alterations in the organ (gill) of the fish, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). Eur J Exp Biol. 1: 198-205.
- SENTHAMIL SELVAN D, CHEZHIAN A, ARUL P, KABILAN N, RAJALAKSHMI K. 2014. Toxicological effects of ammonia on gills of *Cyprinus carpio* var. *communis* (Linn.). J. coast. life med. 2 (2): 94-98.
- SMART G. 1976. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Biol. 8: 471-475.
- THURSTON R, RUSSO R, LUEDTKE R, SMITH C, MEYN E, CHAKOUMAKOS C, WANG K, BROWN C. 1984. Chronic toxicity of ammonia to rainbow trout. Trans Am Fish Soc. 113: 56-73.
- TREVIÑO H, TORRES J, LEVY DA, NORTHCOTE G. 1984. Pesca experimental en aguas negras y limpias del litoral de la Bahía de Puno, Lago Titicaca, Perú. Bol Inst Mar Perú. 8 (6): 36.
- TRIEBSKORN R, TELCEAN I, CASPER H, FARKAS A, SANDU C, STAN G. 2008. Monitoring pollution in River Mures, Romania, part II: metal accumulation and histopathology in fish. Environ Monit Assess. 141: 177-188.