

I. Título:

**CARACTERIZACION ANATÓMICA E HISTOLÓGICA DEL HIGADO DE *Orestias agassii*
DEL LAGO TITICACA**

II. Resumen del Proyecto:

El planteamiento del presente trabajo de investigación permitirá realizar la caracterización anatómica e histológica del hígado de *Orestias agassii* durante los meses de enero a diciembre del año 2023, para dicho efecto se utilizarán 110 ejemplares adultos que serán obtenidos mediante un muestreo completamente al azar capturados en el ámbito de la Bahía de Puno del Lago Titicaca. Las muestras serán estudiadas y analizadas en el laboratorio de Biología de la Facultad de ciencias Biológicas de la UNA Puno. Los aspectos anatómicos del hígado permitirán establecer patrones a determinar sobre la posición del hígado en el cuerpo del pez, el color, la forma, el peso, la calidad, los lóbulos, la vesícula biliar y su conducto, la vena y arteria hepática, entre otros. Los patrones histológicos del hígado de *Orestias agassii* se realizarán a través de un estudio al microscopio óptico. Sin embargo, para este caso tenemos que aplicar las técnicas histológicas empezando con los procesos de fijación de la muestra, la hidratación, la deshidratación, la inclusión en parafina, los cortes al micrótomos, la coloración y el montaje lo que permitirá el estudio minucioso y analítico de los tejidos que componen el hígado y su disposición en la conformación estructural de este órgano. Además, se procederá a realizar un análisis correlacional entre el peso y longitud del pez y el hígado a fin de contar con datos integrales. Los resultados nos servirán de fuente básica de las condiciones en estado normal del hígado lo que servirá como patrón y que conllevará a realizar estudios futuros respecto a los efectos estructurales tanto en lo anatómico como en lo histológico que pueden causar agentes tóxicos presentes en el agua por la contaminación natural o antrópica del ambiente donde se desarrollan estas especies.

III. Palabras Claves:

Anatómico, Antrópico, Especimen, Hepático, Histológico, Lóbulos, Patrones.

IV. Justificación del Proyecto:

Una de las preocupaciones que nos ha llevado a realizar este trabajo fue la disminución de las poblaciones de las *Orestias* (carachis) en el ámbito del Lago Titicaca. Sin embargo, existen informe respecto a la sobrepesca artesanal que generalmente se realiza en este ambiente acuático. Así mismo, en muchos casos se encontró especímenes de *orestias* que frecuentan aguas que son contaminadas por diferentes fuentes como aquellas provienen de la agricultura, la crianza artificial de trucha, y principalmente las aguas servidas de los centros poblados que se desarrollan a orillas del lago, lo que supuestamente por la proliferación de microalgas dentro de las que se encontró a cianobacterias como el caso de *microcystis* (algas coloniales), esta especie a nivel celular concentra la microcistina que es una potente hepatotoxina, que provoca lesiones en el

tejido hepático de peces que se desarrollan en este tipo de aguas. Con el afán de averiguar el grado de afección que provocarían estas microcistinas a los peces, nos hemos visto con la necesidad de realizar en principio el estudio de las características normales del tejido hepático para luego usarlo esto en futuros estudios relacionados a especies sospechosas que habitan en zonas donde hay presencia de cianobacterias a fin de descartar efectos que se podrían suscitar como lesiones principalmente en el hígado y luego la muerte del pez.

Por Este hecho, el estudio de la anatomía e histología del hígado de *Orestias agassii* es importante ya que la condición del tejido sano sirve de testigo para canalizar investigaciones de carácter patológico que no únicamente quedaría en un estudio para peces sino también repercutiría a su aplicación en otros vertebrados como aves acuáticas, anfibios, etc.

Nuestro estudio a realizar tiene una secuencia de procesos que parten con encontrar y proponer patrones anatómicos y luego histológicos de tejidos normales en un número considerable de especímenes que nos servirá como testigo para casos de afecciones que modifican la estructura del tejido.

V. Antecedentes:

La posición taxonómica de *Orestias agassii* de acuerdo a sus características típicas presenta el dorso negro y la parte ventral gris. Sus escamas son normales, la cabeza es proporcional al cuerpo. Su hábitat es demersal entre 1 a 2 metros de profundidad, se alimenta de moluscos, anfípodos y larvas de insectos.

En el Lago Titicaca se distribuye generalmente en la zona litoral, no requieren de mucho oxígeno el medio donde habita.

Según Tchernavin (1944) su posición taxonómica es la siguiente:

Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Super clase	: Piscis
Clase	: Osteichthyes
Sub clase	: Actinopterygii
Super orden	: Teleostei
Orden	: Ciprinodontiformes
Familia	: Ciprinodontidae
Sub familia	: Orestinae
Género	: <i>Orestias</i>
Especie	: <i>Orestias agassii</i>
Nombre vulgar	: "Carachi negro"

Por su tamaño y la importancia de su rol en el proceso digestivo, el hígado es probablemente una glándula anexa al tracto digestivo de mayor importancia (barreda, O.M. 1978).

El hígado se ubica siempre a la altura del esófago y del estómago en posición neutral, sin una forma definida (Vegas, V.M. 1987).

El aspecto anatómico del hígado en cuanto a su morfología en común tiene dos lóbulos, si bien a veces tiene tres, como el de las caballas y en algunos salmónidos o carece de ellos (Kietzmann, P.; Rakow, R. 1974).

El hígado de los teleósteos tiene considerable volumen en relación al cuerpo. Es de color marrón rojizo en las especies libres carnívoras y marrón claro en las especies herbívoras (Robert, T. 1981).

El hígado tiene un volumen grueso, voluminoso y rico en grasa. De la unión de los conductos hepáticos y císticos parte el conducto biliar que desemboca en el intestino. (Robert, T. 1981).

La morfología comparada del hígado casi no merece comentarios, puede ser simple como en la mayoría de teleósteos. (Glasse, P.P. 1977).

En *Orestias agassii* el hígado es prominente, alargado y aplanado; localizado lateralmente hacia el lado izquierdo. (Glasse, P.P. 1977).

La histología del hígado de los peces difiere a la de los mamíferos en que los hepatocitos tienen mucho menor tendencia de dispersarse en cordones o lóbulos. (Robert, T. 1981). Histológicamente en los peces se puede notar una capa mesotelial que recubre el órgano y un parénquima con pequeños canales, vénulas y arteriolas de diverso tamaño y forma. (Vegas, V.M. 1987).

Histológicamente el hígado es estudiado bajo dos estructuras básicas que es el estroma y el parénquima, donde el primero está constituido por la cápsula y el tejido conectivo intersticial y el parénquima hepático está representado por las células llamadas hepatocitos presenta un corte más o menos poligonal, para el caso del ispi los cordones de hepatocitos son desordenados en forma poliédrica. (Aries, S.S. 1972).

Los hepatocitos tienen base ancha y ápice angosto que mira hacia el canalículo biliar a menudo rodeado de 4 a 5 células. (Welsch y Sturch. 1990), así mismo, para otras especies los hepatocitos presentan núcleos pequeños y redondeados (Vegas, V.M. 1987).

Los sinusoides se encuentran en menor número e irregularmente distribuido dentro de los hepatocitos y está revestido por células epiteliales con núcleos muy prominentes. (Robert, T. 1981).

En algunas especies se encuentra tejido parenquimático mezclado con el hepático, pero guardando su independencia funcional. (Robert, T. 1981).

VI. Hipótesis del Trabajo:

La caracterización anatómica e histológica del hígado de *Orestias agassii* permite disponer de patrones que servirán para evidencias efectos subletales.

VII. Objetivo general:

Caracterizar la anatomía e histología del hígado de *Orestias agassii* del Lago Titicaca.

VIII. Objetivos específicos:

Describir patrones anatómicos del hígado de *Orestias agassii* del Lago Titicaca.

Describir patrones histológicos del hígado de *Orestias agassii* del Lago Titicaca.

Determinar la relación peso longitud del hígado de *Orestias agassii* del Lago Titicaca.

IX. Metodología de la Investigación:

La presente investigación se procederá con la obtención de muestras provenientes de la Bahía de Puno, para ello se coleccionarán 150 ejemplares adultos, los mismos, serán distribuidos de la siguiente forma: 30 ejemplares destinados para las determinaciones anatómicas; 20 ejemplares vivos destinados para las determinaciones histológicas y 100 ejemplares de los cuales se considerarán por selección 50 machos y 50 hembras que permitirán establecer la relación longitud peso del hígado y especímenes objeto de estudio.

La descripción de los patrones anatómicos del hígado de *Orestias agassii* se realizará en el laboratorio de biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, los mismos serán examinados inmediatamente después de las capturas programadas ya que debe ser en fresco, para esto se determinará longitud y peso de los especímenes y del hígado de cada individuo. Además, considerando los patrones anatómicos se determinará, la posición del hígado en el pez, el color, la forma, el peso, calidad, los lóbulos, la vesícula biliar y su conducto, la vena y arteria hepática, etc.

La descripción de los patrones histológicos del hígado de *Orestias agassii* se realizarán a través de un estudio al microscopio óptico. Sin embargo, para este caso tenemos que aplicar las técnicas histológicas empezando con la fijación de la muestra y por tratarse de un órgano delicado se utilizará el líquido de Bouin, que consiste en, ácido pícrico al

1.2% en agua por un volumen saturado 75cc y ácido acético glacial 5 cc. Luego se realizará el proceso de hidratación seguido de la deshidratación, para lo cual se utilizará los alcoholes ascendentes desde 70%, 75%, 80%, 95% y 100% por un lapso de 10 horas. Seguidamente, se realizará la inclusión en parafina a una temperatura de 56°C. Seguidamente se realizarán los cortes al micrótopo haciendo cortes entre 4 a 7 micras en un micrótopo tipo Minot y las rebanadas obtenidas se colocarán y pegar en láminas portaobjetos. El paso siguiente, será la coloración y montaje, en cuanto a la coloración se considerará las coloraciones como la HE (hematoxilina y eosina) para teñir núcleos celulares de color azul y citoplasma color rosado; la reacción Schiff (P.A.S.) empleado para determinar la presencia de glucógeno, mucinas, fibrina colágena, etc.; Van Giesson Orceina, coloración que determinará las fibras colágenas, musculares y elásticas; y la Tricrómica de Masson, empleado para determinar las fibras colágenas y musculares. El montaje se aplicará para colocar la laminilla cubreobjetos fijamente utilizando el bálsamo de Canadá y así contar con láminas permanentes que después del estudio serán destinadas a la colección de tejidos del Laboratorio de Biología.

X. Referencias:

Agurto, T. 1983. Colorante y Coloraciones en Biología. Edit. Los Andes Lima Perú.

Alarcón J.W. Manual de Histología Tomo III. Edit. Independencia Arequipa Perú.

Arellano, J. Sarasquete, C. 2006. Atlas Histológico del Lenguado *Senegales solea Senegalensis* (Kauo, 1858). Madrid.

Aries, S.S. 1972. Anatomía y Fisiología de los Peces. "da Edición. Suplemento No. 7 de Acuarama.

Banks, Williams. 1987. Histología Veterinaria Aplicada. 1ra Edición Edit. El Manual Moderno México.

Barreda, O.M. 1978. Ictiología General. Edit. UNFV Lima Perú.

Ciprian, R.C.; Olivera, M.L. 1990. Técnicas Histológicas (Embriología) UNA-FMVZ-Puno.

Choquehuanca, D. 2012. Biología Celular y molecular. Idit. UNA Puno. Puno Perú.

Gartner, L.P. 2002. Texto Atlas de Histología México Edit. Mac Graw Hill.

Genten, F. Terwinghe, E. y Danguy, A. 2009. Atlas of Fish Histology. New Hampshire, Science Publishers.

Glasse, P.P. 1977. Zoología. Toray Masson, S.A. Barcelona España.

Hildebrand, M. 1988 Anatomía y desarrollo de los vertebrados México Edit. Limusa.

Kietzmann, P. Rakow, R. 1974. Inspección Veterinaria del Pescado. Edit. Acribia Zaragoza España.

Lagler et al. 1979. Ictiología. 1ra edición en español. Edit. Ast. Editor S.A.

Leeson, T.S.; Lesson C.R. 1984. Histología IV Edición, Edit. Interamericana S.A. México.

Lopez-Cespada, J. Pacheco-Cartagena, P. y Vilaxa-Olcay, A. 2014. Descripción Morfológica e Histológica del tejido Hepático de *Gambusia holbroki* (Pisces: Poeciliidae) que habita en la provincia de Arica – Chile.

Mancini, M. 2002 Introducción a la Biología de los Peces

Oliva C.T. 1986. Biología Reproductiva. Edit. Biociencia Trujillo Perú.

Parent L., R. 1984. A Taxonomic Revision of the Andean Killifish Genus *Orestias*. Boletín de Museo Americano de Historia. Nueva York, U.S.A.

Robert, T. 1981. Patología de los Peces. Ediciones Mundi Prensa, Madrid España.

Romer, A. S. 1966. Anatomía Comparada. (Vertebrados). 3ra Edición México.

Torres, R. 2002. Manual de Técnicas Histológicas y Anatomía Patológica. Edit Ariel Barcelona.

Torres, R.G.A.; González, P.S. y Peña, S.E. 2010. Anatomical, Histological and ultrastructural description of the gills and liver of the tilapia (*Oreochromis niloticus*). Int. J. Morphol.

Vegas, V.M. 1987. Ictiología. Texto Universitario, CONCYTEC. Lima Perú.

Welsch y Sturch. 1990. Estudio comparado de Ictiología e Histología Animal. Ediciones Urno S.A. España.

XI. Uso de los resultados y contribuciones del Proyecto:

La determinación descriptiva desde el punto de vista anatómico e histológico del hígado de *Orestias agassii* presentes en la Bahía de Puno permitirá establecer la característica propia de la estructura hepática de esta especie que contribuirá a un conocimiento más preciso de la biología de los peces nativos que habitan el Lago Titicaca. Por otro lado, este estudio permitirá establecer la morfología estructural normal del hígado considerando que es un órgano importante que regula los tipos de nutrientes que

satisface las necesidades de las células del organismo y que también a través de este estudio será mucho más propicio encontrar efectos que provocan los elementos contaminantes provenientes principalmente por la actividad antrópica dispuestos en el agua que puedan ocasionar alteraciones estructurales como consecuencia el estrés ambiental, enfermedades hepáticas, etc.

XII. Impactos esperados:

- Impactos en ciencia y tecnología:

Para los casos de problemas patológicos que puedan afectar casi directamente al hígado en el caso de peces y particularmente a *Orestias agassii*, es necesario conocer las características morfológicas normales y a partir de ello aplicar en futuros estudios desde el punto de vista de anomalías estructurales de especímenes que procedan de zonas fuertemente eutrofizadas del Lago Titicaca donde se desarrollan cianobacterias tóxicas que conforman parte del hábitat de estas especies y que fácilmente pueden ser consumidas y digeridas.

- Impactos económicos:

Las poblaciones de peces nativos en el Lago Titicaca están fuertemente disminuyendo en los últimos años, que muchas veces se atribuye a la sobre pesca y más aún a los factores de contaminación de las aguas del lago, por consecuencia a un deficiente desarrollo orgánico de los peces. En tal sentido, el presente estudio y otros futuros al respecto contribuirán a que las poblaciones de peces mantengan sus niveles adecuadas para mitigar la situación económica familiar del poblador rural que vive de la pesca artesanal en sus riberas.

- Impactos sociales:

Muchas veces la conservación de peces nativos en el Lago Titicaca es de suma importancia para el poblador circunlacustre por las bondades nutricionales y la economía familiar que aportan y cuando existe un stock de peces silvestres en estado saludable a la conservación permite un equilibrio en la sobrevivencia. Sin embargo, por los efectos contaminantes del agua se puede provocar disminución de poblaciones de peces y por consecuencia los impactos se van siendo negativos para la sociedad que hace uso de ellos.

- Impactos ambientales:

Si se quiere averiguar que las poblaciones de peces nativos se mantengan equilibradas en el lago Titicaca, se tiene que partir de un estudio de características anatómicas e histológicas principalmente del hígado como el órgano principal en la relación y regulación de nutrientes y luego buscar el efecto que provoca

XVI. Presupuesto:

Descripción	Unidad de medida	Costo Unitario (S/.)	Cantidad	Costo total (S/.)
R.H.: Autor	Unidad	350.00	01	4200.00
Coautores	Unidad	350.00	02	8400.00
Bienes:				
Equipo portátil	Unidad	40.00	01	40.00
Celular	Unidad	900.00	01	900.00
Eq. Extractor M.	Unidad	20.00	01	20.00
Microscopio com	Unidad	5,000.00	01	5,000.00
Esteriomicrosc.	Unidad	5,000.00	01	5,000.00
Estuche de disec.	Unidad	60.00	01	60.00
Micrótomo	Unidad	3000.00	01	3000.00
Pipetas Pasteur	Caja	50.00	01	50.00
Erlenmeyer	Unidad	20.00	05	100.00
Vaso precipitado	Unidad	20.00	05	100.00
Placas Petri	Unidad	20.00	03	60.00
Cubre y Porta O.	Cajas	20.00	02	40.00
Alcohol Metílico	Frasco	60.00	01	60.00
Parafina	Bolsa	60.00	03	180.00
Formol	Frasco	30.00	01	30.00
Colorantes	Frasquitos	30.00	05	150.00
Líquido Bouin (p)	Frasco	100.00	01	100.00
Papel Bond A4	Millar	15.00	01	15.00
Tinta impresora	Frasco	30.00	01	30.00
Imprevistos	Unidad	500.00	01	500.00
Total				28035.00