

ALTERACIONES HISTOLÓGICAS ASOCIADAS CON MICROCISTINAS EN
HÍGADO Y BRANQUIAS DE BOCACHICO, *Prochilodus magdalenae*
(Stenidachner, 1878), EN LAS CIÉNAGAS DE MOMIL Y SAN SEBASTIÁN,
COMPLEJO CENAGOSO DEL BAJO SINÚ, CÓRDOBA-COLOMBIA.

JUAN ESTEBAN BARRIOS SALCEDO

JULIO CESAR OTERO PÉREZ

PROGRAMA DE ACUICULTURA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ACUÍCOLAS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
MONTERÍA
2020

ALTERACIONES HISTOLÓGICAS ASOCIADAS CON MICROCISTINAS EN
HÍGADO Y BRANQUIAS DE BOCACHICO, *Prochilodus magdalenae*
(Stenidachner, 1878), EN LAS CIÉNAGAS DE MOMIL Y SAN SEBASTIÁN,
COMPLEJO CENAGOSO DEL BAJO SINÚ, CÓRDOBA-COLOMBIA.

JUAN ESTEBAN BARRIOS SALCEDO

JULIO CESAR OTERO PÉREZ

Trabajo de Grado como requisito
para optar al Título de Profesional
en Acuicultura

Directoras:

DIANA HERAZO CÁRDENAS
Bióloga Marina, MSc.

ADRIANA VALLEJO ISAZA
Bióloga, Ph.

PROGRAMA DE ACUICULTURA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ACUÍCOLAS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
MONTERÍA
2020

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Montería, febrero de 2020

El jurado calificador del trabajo no será responsable de las ideas emitidas por el autor (Artículo 46, Acuerdo 006 del 29 de mayo de 1979 del Consejo Superior)

DEDICATORIA

Principalmente a Dios por ser mi guía en este arduo proceso, por haberme permitido desarrollar este trabajo y darme la gran bendición de estudiar esta hermosa carrera. Por su infinita misericordia que tantas veces me levanto y motivo a seguir adelante a pesar de las circunstancias.

A mis padres Marco Tulio Barrios Ramos que, aunque en el cielo esta me ha iluminado y protegido a lo largo de mi vida, a mi madre Luz Nery Salcedo Naranjo por sus sabios consejos y su amor incondicional en todo momento y a mi hermano Marco Andres Barrios Salcedo que más que un hermano ha sido como un padre, sin su apoyo esta meta habría sido mucho más difícil.

A mis directoras Adriana y Diana que no tendré como agradecerles su calidez humana, la oportunidad brindada al permitirme conocer lo maravilloso del mundo de la investigación y su acompañamiento en todo este proceso. A mis familiares y amigos, que durante todo este tiempo su amistad y cariño fue de gran bendición. En especial a mi compañero de tesis Julio Otero por su paciencia y humildad a la hora de emprender este proyecto. A mi novia Asly Jissel Rovira Mosquera por brindarme su apoyo, amor y cariño en todo momento.

Juan Esteban

DEDICATORIA

A Dios por dárme la vida, guiarme en mi camino. Por permitirme encontrar a las personas correctas y encaminarme en este gran proyecto, por brindarme entendimiento y fortalezas en medio de toda circunstancia.

A mis padres Julio Cesar Otero Arrieta y Amada Isabel Pérez Montiel que, por medio de su incondicional apoyo, consejos, comprensión y gran amor fue posible realizar esta investigación, a mis hermanos Susana Otero Pérez que siempre me ha brindado su ayuda incondicional e infinito apoyo, a Leonardo Otero Pérez ya que todo este proceso fue más fácil gracias a ellos.

A mis directoras Adriana Vallejo y Diana Herazo por su gran apoyo, paciencia y brindarnos su calidad humana, su acompañamiento en todo este proceso. A mis familiares y amigos, que durante todo este tiempo me han brindado su apoyo y amistad que han sido cruciales para poder llegar hasta este punto. A mi compañero de trabajo de grado Juan Esteban que ha sido parte fundamental en todo este proceso brindándome su confianza y amistad. A mi novia María José Chamorro Vergara que me brindo su amor, paciencia y estuvo en gran parte de este proceso.

Julio Cesar

AGRADECIMIENTOS

A nuestras directoras Dra. Adriana Vallejo Isaza y MSc. Diana Herazo Cárdenas por ofrecernos la oportunidad de llevar a cabo esta investigación bajo su orientación, por su dedicación, profesionalismos y calidez humana.

A la Universidad de Córdoba a través del Departamento de Ciencias Acuícolas al permitirnos trabajar ampliamente en los Laboratorios de Sanidad Acuícola y Calidad de Agua, y al Laboratorio de Microscopia del instituto de investigación CINPIC para realizar el presente estudio.

A los Docentes del Programa por su aporte en nuestra formación profesional y por su colaboración y consejos, en especial al profesor Fredy Segura Guevara.

A los profesionales en Acuicultura Xiomara Cogollo López, Isaura García, Eva Guzmán y Reinaldo Cano. Por su gran apoyo, colaboración y amistad.

En especial a la Universidad de Córdoba quien a partir de la convocatoria Interna de proyectos de investigación “Estrategias para la Sostenibilidad de los grupos de investigación 2017” apporto los recursos económicos para el desarrollo del proyecto de investigación “Apoyo a proyectos de nutrición acuícola, criopreservación y sanidad acuícola del Grupo CINPIC” **ACT. FMV 2017-02**

TABLA DE CONTENIDO

	Página
RESUMEN	XV
ABSTRACT.....	XVI
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3 MARCO TEÓRICO.....	4
3.1 COMPLEJO CENAGOSO DEL BAJO SINÚ (CCBS).....	4
3.2 EL BOCACHICO	5
3.2.1 <i>Generalidades</i>	5
3.2.2 <i>Clasificación taxonómica</i>	7
3.3 CIANOBACTERIAS.....	8
3.3.1 <i>Generalidades</i>	8
3.3.2 <i>Cianotoxinas</i>	8
3.3.3 <i>Condiciones que favorecen el desarrollo de cianobacterias y cianotoxinas</i>	10
3.3.4 <i>Efectos ecotoxicológicos de las cianotoxinas</i>	11
3.4 Impacto sobre el ecosistema.....	13
3.5 Bioacumulación.....	13
3.6 Biomagnificación.....	16
3.7 Hepatotoxinas.....	17
3.7.1 <i>Microcistinas (MC's)</i>	17
3.7.2 <i>Toxicidad de las microcistinas (MC)</i>	18
3.8 Histopatología asociada a MC en branquias e hígado.....	19
3.8.1 <i>Alteraciones histológicas en branquias</i>	19
3.8.2 <i>Alteraciones histológicas en el hígado</i>	23
3.9 Intoxicación con MC.....	28
3.9.1 <i>Intoxicación aguda con MC</i>	29
3.9.2 <i>Intoxicación crónica con MC</i>	29
3.10 TÉCNICAS HISTOLÓGICAS.....	33
4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
4.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	36

4.2	FASE DE CAMPO.....	39
4.2.1	<i>Establecimiento de las estaciones de muestreo.....</i>	39
4.2.2	<i>Definición del tamaño de la muestra.....</i>	39
4.2.3	<i>Obtención de la muestra en campo.....</i>	40
4.3	FASE DE LABORATORIO.....	40
4.4	ANÁLISIS DE DATOS.....	43
5	RESULTADOS.....	45
5.1	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LOS PECES.....	45
5.2	ALTERACIONES HISTOLÓGICAS DE BRANQUIAS E HÍGADO DE LOS PECES.....	47
5.2.1	<i>Lesiones específicas para toxicidad por MC en branquias.....</i>	47
5.2.2	<i>Distribución de frecuencias y grado de severidad en tejido branquial.....</i>	48
5.2.3	<i>Lesiones específicas para toxicidad por MC en hígado.....</i>	50
5.2.4	<i>Distribución de frecuencias y grado de severidad en tejido hepático.....</i>	53
5.2.5	<i>Correspondencia (coincidencias) entre los hallazgos y las lesiones asociadas a MC's, reportadas en la literatura.....</i>	53
5.3	PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN EL MEDIO ACUÁTICO DEL CCBS, DURANTE EL ESTUDIO.....	54
5.3.1	<i>Temperatura.....</i>	55
5.3.2	<i>Transparencia.....</i>	55
5.3.3	<i>Conductividad ($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$).....</i>	56
5.3.4	<i>Oxígeno disuelto ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).....</i>	56
5.3.5	<i>pH.....</i>	56
5.4	CORRELACION DE LAS VARIABLES FISICO-QUIMICAS DEL AGUA Y LAS ALTERACIONES HISTOLOGICAS.....	58
6	DISCUSIÓN.....	60
6.1	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y FACTOR DE CONDICIÓN.....	60
6.1.1	<i>Alteraciones histológicas en hígado y branquia.....</i>	61
6.2	VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS.....	65
6.3	ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.....	70
7	CONCLUSIONES.....	73
8	BIBLIOGRAFÍA.....	74
	ANEXOS.....	85

LISTA DE TABLAS

	Página
TABLA 1. Características generales de las cianotoxinas que se han identificado hasta la fecha sintetizados por diversos géneros de cianobacterias (Modificado de Cong, 2015; Giannuzzi et al., 2011; Lucena, 2008).	9
TABLA 2. Efectos ecológicos de florecimientos de cianobacterias frecuentes o persistentes (Tomado de Guiannuzzi et al., 2011).	12
TABLA 3. Lesiones asociadas a microcistinas en órganos diana (branquias e hígado) de peces (Prieto et al., 2008; Gutierrez et al., 2012; Guiannuzzi et al., 2017).	32
TABLA 4. Casos documentados de intoxicaciones humanas asociadas con cianotoxinas (Tomado de Cong, 2015).	33
TABLA 5. Criterios empleados para cuantificar el grado de severidad.	42
TABLA 6. Características biométricas y físicas de los peces en este estudio.	45
TABLA 7. Alteraciones macroscópicas en las muestras de <i>P. magdalenae</i> de Momil y San Sebastián entre septiembre 2017 y marzo del 2018.	46

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	<i>Prochilodus magdalenae</i> (Foto original: Olaya-Nieto, 2002).....	7
Figura 2.	Representación esquemática de las vías de entrada, absorción, distribución, metabolismo, acumulación y excreción de MCs en peces. Tomado de Giannuzzi et al., 2017.	16
Figura 3.	Estructura química de las microcistinas (Cong, 2015).....	17
Figura 4.	Fotomicrografías de branquias de <i>Cyprinus carpio</i> (C) Grupo tratado con PF (Fipronil): atrofia lamelar (flecha delgada), degeneración lamelar (círculo), necrosis epitelial y desprendimiento (*), ruptura de laminillas primarias (**) y pérdida de laminillas secundarias (flecha gruesa) ampliación x300, H & E. Barra de escala 100 µm (Tomado de Qureshi et al., 2016).....	20
Figura 5.	Hiperemia y edema lamelar (flecha) en branquia de Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) expuesta a <i>Cylindrospermopsina</i> estándar (pureza ≥ 95%). Barra de escala de 100 µm. (Tinción con H&E) (Tomado de Gutierrez et al., 2012).....	21
Figura 6.	Sección de branquias de una trucha arco iris <i>Oncorhynchus mykiss</i> expuestas experimentalmente al quitosano. Presentan atrofia lamelar focal (flechas negras), fusión lamelar focal (f). Se observa el relleno de los surcos interlamelares mediante la proliferación de las células del pavimento y las adherencias lamelares (la unión de las láminas adyacentes con poca o ninguna evidencia de proliferación celular), como un indicador específico de pavimento agudo necrosis celular (Bullock et al., 2000). H&E, barra = 25 µm (Tomado de Wolf et al., 2015).	21
Figura 7.	Sección de branquias extirpadas de salmón adulto del Atlántico <i>Salmo salar</i> . La telangiectasia (flecha) se caracteriza por la distensión focal, llena de sangre (aneurismática) de los capilares lamelares. Tales lesiones a menudo son inducidas inadvertidamente en el sacrificio. H&E, barra de = 50 µm (Tomado de Wolf et al., 2015).....	22
Figura 8.	La hiperplasia de células de cloro como componente de la bronquitis proliferativa (flechas en el recuadro) de tilapia adulta <i>Oreochromis</i> sp. Grandes, poligonales, rosadas con núcleos excéntricos. Los surcos interlamelares son adicionalmente lleno de células inflamatorias mononucleares. H&E, barra de = 50 µm. (Imagen de Gaikowski et al. 2013, modificada y reimpressa con permiso) (Tomado de Wolf et al., 2015).	23
Figura 9.	Reacción ductular prominente en colestasis aguda (flecha). Se puede observar inflamación con neutrófilos en el espacio porta y tapones biliares. Ampliación 400X (H & E) (López R, 2016).	24
Figura 10.	Infarto grande en el hígado del tronco de un pez globo <i>Cyclopterus lumpus</i> . La obstrucción de una vena hepática (V) por un trombo (flecha) con necrosis extensa (N) del parénquima hepático. Las líneas punteadas identifican los límites entre las áreas del hígado afectadas y las menos afectadas. La necrosis extensa que afecta todo el hígado puede ocurrir como un efecto de la toxicosis por microcistina. H&E, barra de = 250 µm. (Wolf et al., 2014).....	24

Figura 11.	Hígado de piraña de vientre rojo cautiva <i>Pygocentrus nattereri</i> , con aumento de vacuolación de tipo lipídico. Además, muchos hepatocitos contienen pequeños glóbulos intracitoplasmáticos esféricos (flecha en recuadro). Aunque la composición precisa, la causa y la importancia patológica de estas inclusiones eosinofílicas a menudo se desconocen, no es raro observar tales gotas en los hígados de peces clínicamente sanos. Barra = 25 μ m (H & E). (Tomado de Wolf et al., 2015).....	25
Figura 12.	Secciones de hígado de ratón que fueron tratados i.p. durante 30 días con 25 mg de MC-LR puro/kg. La microfotografía muestra que los ratones presentaron discariosis nuclear y un alto grado de binucleación (flechas) teñidas con H & E, ampliación a 400x (Tomado y modificado de Andrinolo et al., 2007).	26
Figura 13.	Corte histológico de hígado (equino) donde puede observarse vacuolización severa, degeneración de hepatocitos y hemorragia severa a nivel centrolobulillar (flecha) Bar = 50 μ m (H & E) (Tomado de Robles et al., 2016).	26
Figura 14.	Fotomicrografías del hígado de <i>Cyprinus carpio</i> (C) Grupo tratado con FP: contracción de la vena central (cv), formación ceroides (*), contracción citoplasmática (flecha delgada), hiperplasia (hp), alteración sinusoidal (sa), hipertrofia nuclear (círculo), espacio sinusoidal ensanchado (rectángulo) y hemorragia (flecha gruesa) e infiltraciones eosinofílicas (e). FP: fipronil, BPFN: buprofezin. Ampliación 600X, H & E. Barra de escala 100 μ m (Tomado de Qureshi et al., 2016).....	27
Figura 15.	Tejido hepático de Sable negro (<i>Aphanopus carbo</i>) con pleomorfismo hepatocelular y nuclear que muestra hepatocitos agrandados con citoplasma granular disperso (turgencia) (flecha sólida) y núcleos hipertrofiados con cromatina gruesa (flechas). Barra de = 50 μ m (H & E) (Feist et al., 2015).	28
Figura 16.	Procesamiento libre de xilol (Mojica, 2012).	34
Figura 17.	Estaciones de muestreo en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, Córdoba-Colombia. Los puntos de muestreo están representados con el indicador de color rojo.	37
Figura 18	Panorámica de la Ciénaga de San Sebastián Córdoba (Foto JE. Barrios, 2017).	38
Figura 19	Panorámica de la Ciénaga de Momil, Córdoba (Original, 2017).	38
Figura 20	Protocolo de histología libre de xilol, estandarizado en el laboratorio de Sanidad Acuícola y Calidad de Agua adaptado de Mojica, 2012; Vallejo y Newmark, 1999.	41
Figura 21	Ilustración de la metodología realizada para la determinación del grado de severidad propuesta por Vallejo y Neumark (1999). Cuadrantes comprometidos en el campo visual.	42
Figura 22.	Cuadro hemorrágico en branquias de bocachico en el CCBS, durante septiembre del 2017 y marzo del 2018.	46

Figura 23. Alteraciones macroscópicas en hígado de bocachico *P. magdalenae* en el CCBS (2017-2018). A) Hígado hipertrofiado; B) Órgano hepático oscurecido (Foto de DS. Herazo)..... 47

Figura 24. Lesiones de las branquias asociadas a MC en *P. magdalenae* del CCBS entre 2017 y 2018 (H&E; 40X; Bar: 50 μ m). A) Atrofia lamelar (flechas); B) Pérdida de función lamelar (flecha); C) Hiperemia ; D) Fusión de lamelas (flecha); E) Degeneración de lamelas (circulo); F) Telangiectasia o aneurisma ▲..... 49

ANEXOS

Página.

ANEXO 1. Estadística descriptiva de las variables biométricas talla (cm), peso (g) y Factor de condición (FC) en bocachico <i>P. magdalenae</i> en las estaciones de muestreo San Sebastián y Momil del CCBS, Colombia entre septiembre de 2017 a marzo de 2018.....	85
ANEXO 2. Cambios histológicos (grados de severidad (escala semicuantitativa) 0; I (0,25); II (0,5); III (0,75) y IV (1.0)) en branquias e hígado de bocachico <i>P. magdalenae</i> en el CCBS entre septiembre de 2017 y marzo del 2018.	87
ANEXO 3. Variables físicas y químicas de la Ciénaga de San Sebastián y la Ciénaga de Momil CCBS durante septiembre de 2017 y marzo de 2018.	95
ANEXO 4. Estadística descriptiva de las variables físicas y químicas, a. Ciénaga de San Sebastián; b. Ciénaga de Momil.	96
ANEXO 5. Análisis de Componentes Principales (ACP) entre las variables físicas y químicas con las variables biológicas (cambios histológicos asociados con MC).	97
ANEXO 5.1. Estadísticos descriptivos (Datos cuantitativos):.....	97
ANEXO 5.2. Estadísticos descriptivos (Datos cualitativos):.....	97
ANEXO 5.3. Matriz de correlaciones (Spearman (n)):.....	98
ANEXO 5.4. Prueba de esf. de Bartlett:.....	99
ANEXO 5.5. Análisis de Componentes Principales (ACP):.....	99
ANEXO 5.6. Correlaciones entre las variables y los factores:	101

RESUMEN

Las Microcistinas (MC) son hepatotoxinas producidas por cianobacterias, responsables de eventos de intoxicación, constituyendo un factor de riesgo para la salud. Estas toxinas son absorbidas por los peces a través del flujo sanguíneo, distribuyéndose en las branquias, el hígado y músculo, causando alteraciones histológicas. Con el objetivo de determinar las alteraciones histológicas asociadas con MC en branquias e hígado en bocachico (*Prochilodus magdalenae*) del Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, Córdoba (CCBS) Colombia, una muestra de 113 peces fue seleccionada aleatoriamente entre septiembre de 2017 y marzo de 2018 en las Ciénagas San Sebastián y Momil. Mediante la técnica histológica libre de xilol, se prepararon cortes histológicos de 4 μm de tejido branquial y hepático, teñidos con coloración estándar de hematoxilina y eosina (H&E), y estudiados al microscopio óptico a 40X y 100 aumentos. De los hallazgos histológicos, se determinó la frecuencia de aparición y grado de severidad de alteraciones no específicas y específicas para intoxicación por MC, considerando la cobertura y frecuencia de aparición como eventual (grado I), leve (grado II), grave (III) y severo (grado IV). Las variables temperatura ($^{\circ}\text{C}$), conductividad ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) pH, Oxígeno disuelto ($\text{OD mg}\cdot\text{l}^{-1}$) y transparencia (cm) fueron registradas *in situ*. Cien por ciento de los peces presentaron alguna alteración histológica en branquias e hígado, de las cuales 57% correspondieron a cambios específicos para MC. En el tejido branquial, seis (6) tipos de alteraciones se presentaron entre el 13% y 34% de las muestras, con grados de severidad III y IV. Hiperemia (34%), atrofia (26%) fusión de lamelas (20%), y pérdida de función lamelar (16%), los más representativos. Por su parte, en el tejido hepático, entre 13% y 44% de las muestras presentaron alguna de las alteraciones específicas reconocidas, siendo degeneración plumosa (42%), vacuolización (23%), necrosis (21 %) y hepatocitos binucleados (17%) los hallazgos más importantes con grados de severidad III y IV. En relación a las variables ambientales, la temperatura promedio del agua en las estaciones, durante el estudio estuvo en $29,70^{\circ}\text{C} \pm 0,9^{\circ}\text{C}$ en San Sebastián y $31,18^{\circ}\text{C} \pm 0,71^{\circ}\text{C}$ en Momil, con diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las estaciones. El Índice de Estado Trófico (TSI) del ecosistema San Sebastián fue de 73,2 y de Momil 75,9, correspondiendo a ecosistemas eutróficos, lo que explica un ambiente apto para la proliferación de cianobacterias potencialmente tóxicas. Se evidenció una alta prevalencia de lesiones histológicas severas en branquias e hígado asociadas a intoxicación por MC, las cuales se incrementaron en el período de aguas altas en ambos sitios de muestreo, confirmando que las condiciones ambientales y el estado trófico TSI, constituyen factores de riesgo de daño orgánico de los bocachicos.

Palabras clave: Peces, Bocachico, Eutroficación, Cianobacterias, Microcistinas, Histopatología.

ABSTRACT

Microcystins (MC) are hepatotoxins produced by cyanobacteria, responsible for poisoning events, constituting a risk factor for health. These toxins are absorbed by the fish through blood flow, distributed in the gills, liver and muscle, causing histological alterations. Our aim was to determine the histological alterations associated with MC in gills and liver in bocachico (*Prochilodus magdalenae*) of the Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS), Córdoba Colombia. A sample of 113 fish was randomly selected between September 2017 and March 2018 on San Sebastián and Momil zones. Using the xylo-free histological technique, 4 µm histological sections of gill and liver tissue were prepared, stained with standard method of hematoxylin and eosin (H&E) and studied under an optical microscope at 40X and 100X magnification. From the histological findings, the frequency and degree of severity of non-specific and specific alterations for MC poisoning were determined, taking a count the coverage and frequency of occurrence as eventual (grade I), mild (grade II), severe (III) and severe (grade IV). The temperature (T°C), conductivity (µS.cm⁻¹) pH, dissolved oxygen (OD mg.L⁻¹) and transparency (cm) were recorded in situ. One hundred percent of the fish presented some histological alteration in gills and liver, of which 57% corresponded to specific changes for MC. In the gill tissue, six (6) types of alterations occurred between 13% and 34% of the samples, with severity grades III and IV. Hyperemia (34%), atrophy (26%) lamellar fusion (20%), and loss of lamellar function (16%), the most representative. On the other hand, in the liver tissue, between 13% and 44% of the samples presented some of the specific alterations recognized, being feathery degeneration (42%), vacuolization (23%), necrosis (21%) and binucleated hepatocytes (17 %) the most important findings with severity grades III and IV. In relation to environmental variables, the average water temperature in the stations during the study was 29,70°C ± 0,9 °C in San Sebastian and 31,18°C ± 0,71 °C in Momil, with significant difference (p <0.05) between the seasons. The Trophic State Index (TSI) of the San Sebastian ecosystem was 73,2 and Momil 75,9, corresponding to eutrophic ecosystems, which explains an environment suitable for the proliferation of potentially toxic cyanobacteria. There was a high prevalence of severe histological lesions in gills and liver associated with MC poisoning, which increased in the high-water period at both sampling sites, confirming that environmental conditions and TSI trophic status constitute risk factors of organic damage of the bocachicos.

Key words: Fish, Bocachico, Eutrophication, Cyanobacteria, Microcystins, Histopathology.

1 INTRODUCCIÓN

Las microcistinas (MC) son toxinas de naturaleza peptídica e hidrosolubles, responsables de los eventos de intoxicación producidas por cianobacterias. Son heptapéptidos cíclicos que tienen como órgano blanco el hígado, por lo tanto, es considerada como una hepatotoxina, aunque puede tener efectos sobre otros órganos como riñón, pulmón e intestino. Debido a que las cianobacterias productoras de estas toxinas están presentes en el agua, cualquier contacto con cuerpos de agua contaminados pueden generar intoxicaciones tanto agudas como crónicas, con los consecuentes daños en la salud de los organismos expuestos (Giannuzzi et al., 2011).

La elevada concentración de células derivada de la floración de las cianobacterias, resulta perjudicial para la salud humana; estos organismos suelen producir varias toxinas responsables de trastornos neurológicos, hepáticos, dérmicos y/o respiratorios en los seres humanos, tanto por ingesta, inhalación, o por contacto con el agua. Adicionalmente, la producción de metabolitos volátiles genera un olor similar a la tierra húmeda, “moho” o “gamexane”, a la vez que otorga un sabor desagradable a los peces por ingesta y acumulación en sus tejidos grasos (Giannuzzi et al., 2017)

En Argentina, en el año 1954 se presentó el primer reporte de accidentes tóxicos ocasionados por la presencia de microcistinas en la Laguna San Miguel del Monte, con la muerte masiva de peces en presencia de un florecimiento algal (Pérez et al., 2008).

Las microcistinas son absorbidas en peces a través de los opérculos o por el epitelio intestinal, tras lo cual se produce un rápido transporte de las toxinas a través del flujo sanguíneo, distribuyéndose a varios órganos o tejidos; por esta razón se presenta una mayor distribución de microcistinas en los órganos más irrigados como el hígado, riñón, intestino y opérculos (Prieto et al., 2008). De acuerdo con estos autores, en algunas especies de peces como cíclidos tropicales y ciprínidos, las cianobacterias, pueden formar parte de su dieta,

hecho que se ha evidenciado por la presencia de células de *Microcystis* en el estómago de peces, confirmando este hecho (Prieto et al., 2008).

Se ha observado que el efecto más marcado generado por la microcistina es la degeneración progresiva del hígado; dicha enfermedad denominada “Net Pen Liver Disease”, ha ocasionado grandes pérdidas en el sector acuícola (Moreno et al., 2003).

Teniendo en cuenta los hallazgos de Carmichael et al. (1996), la intoxicación por cianotoxinas se ha observado alrededor de todo el mundo generando daños y pérdidas fatales en animales de cultivo (peces), como en mamíferos y aves expuestos a aguas contaminadas por cianotoxinas; también se ha dicho que la ingestión o manipulación de aguas contaminadas con cianotoxinas tienen efectos letales sobre la salud humana (WHO, 2011).

Dadas las múltiples lesiones producidas por las microcistinas en especies de interés acuícola y sus repercusiones para la salud humana, se hace necesario determinar la presencia de posibles daños en tejido hepático y branquial del bocachico (*Prochilodus magdalenae*) en presencia de microcistinas en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, con el fin de detectar un posible problema de tipo sanitario y de salud pública en las poblaciones aledañas al área de estudio.

2 OBJETIVOS.

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar alteraciones histológicas asociadas con microcistinas en hígado y branquias de bocachico (*P. magdalenae*), en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, Córdoba-Colombia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Establecer la frecuencia de aparición de las lesiones asociadas a microcistinas en la población de bocachico del CCBS, en el periodo de estudio.
- Determinar la magnitud (grado de severidad) del daño histopatológico en branquias e hígado de bocachico, atribuibles a la intoxicación por microcistinas.
- Verificar la correlación entre las variables físicas y químicas del agua con la frecuencia y magnitud de las lesiones histológicas en branquias e hígado de bocachico.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 COMPLEJO CENAGOSO DEL BAJO SINÚ (CCBS).

El CCBS, gracias a su conexión con el Río Sinú, se convierte en determinante clave de la vida de los municipios que la rodean debido principalmente a dos razones: su función amortiguadora y condición ecológica convirtiéndose en un hábitat que alberga gran variedad de fauna y flora, específicamente de especies de peces como el Bocachico, Blanquillo, Moncholo, Yalúa y la Mojarra Amarilla. Pese a la tala de bosques asociados a este ecosistema, todavía persiste parte de la flora nativa como Pimientos, Dorados, Naranjuelos, Higos, Robles y Campanos. El entorno es también ideal para Babillas, Tortugas Hicoteas, el Chavarrí, los Patos Pisingos, todas amenazadas por la acción del hombre, y la presencia de aves como el Colibrí y algunas especies migratorias como el Barraquete, el Águila Pescadora, Chorlitos, Gaviotas. Todos estos recursos han sido históricamente aprovechadas por los habitantes sinúanos, que han desarrollado toda una economía a su alrededor (Aguilera, 2011; Salazar, 2008).

El clima de la zona se define como semiseco con una humedad relativa superior al 80% y está caracterizado por un nivel elevado de radiación solar (5.4 horas-sol por día) y temperaturas altas durante todo el año con un promedio de 27.6 °C, alcanzando el máximo en abril (promedio 28 °C) y mínimo en noviembre (promedio 27.2 °C). En cuanto a las lluvias, la precipitación media multianual es de 1.350 mm. El área ocupada por la ciénaga presenta un sistema de precipitación conocido como unimodal, que significa al año una temporada seca, de noviembre a abril, y una húmeda, de abril o mayo a octubre o noviembre, en la que se registra más del 80% de las precipitaciones del año. El CCBS alcanza en algunas zonas los 5 metros y medio, pero en promedio es poco profunda (Aguilera, 2011).

Curiosamente, tanto las sequías como las lluvias intensas, pueden generar la aparición de floraciones de cianobacterias en estos ecosistemas. Las sequías,

porque pueden favorecer la retención de nutrientes por mayores tiempos beneficiando el desarrollo de las especies potencialmente tóxicas y/o aumentar la conductividad de los embalses, provocar el estrés de las células y así favorecer la liberación de toxinas; por su parte las lluvias extremas, porque pueden facilitar el transporte de los nutrientes de la tierra a los cuerpos de agua favoreciendo el desarrollo de estos microorganismos (Guiannuzzi et al., 2017).

3.2 EL BOCACHICO

3.2.1 Generalidades

El bocachico junto con las demás especies del género *Prochilodus*, hace parte del grupo de peces reofílicos de mayor importancia económica continental en Suramérica. El género tiene amplia distribución en el neotrópico, siendo considerado uno de los más diversos de los Characiformes con cerca de 20 a 25 especies (Mago-Leccia, 1972; Géry, 1977).

El bocachico, se reconoce fácilmente por su boca pequeña, carnosa y prominente, provista de una serie de dientes diminutos en los labios y por la presencia de una espina predorsal punzante. La coloración de los adultos es plateada uniforme, con aletas con matices rojos o amarillos. Sus escamas son rugosas al tacto y la serie de la línea lateral está compuesta por 40 a 46 escamas perforadas. Las aletas dorsal y anal con 10 a 11 radios cada una, características que se evidencian en la figura 1 (Mojica et al., 2012).

El bocachico es la principal especie de la pesquería en las cuencas de los ríos Magdalena y Sinú, debido a su gran aceptación y valor comercial en todo el país. En el año 2016 (julio-diciembre), en el departamento de Córdoba, se registró una tasa promedio de captura 319 (Tm) (SEPEC, 2010; SEPEC, 2016). Sin embargo, en la actualidad el bocachico se considera una de las especies con mayor grado de vulnerabilidad (VU) por su alto aporte a la pesca comercial y de consumo (Mojica et al., 2012).

La contaminación, deforestación, introducción de especies exóticas y drenaje de cuerpos de agua o taponamiento de caños y quebradas se convierten en hechos que han contribuido a la amenaza de esta especie. La escasez de recursos pesqueros altera igualmente el entorno social, pues muchos pescadores dependen de la actividad pesquera para el sostenimiento de sus familias (SEPEC, 2010).

El ciclo de vida del bocachico *P. magdalenae* está relacionado con los patrones hidrológicos de inundación y estiaje; durante las aguas altas, época de mayor pluviosidad (julio-noviembre), permanece en las ciénagas alimentándose de materia orgánica en descomposición (detritos, diatomeas y algas verde-azules), aportada principalmente por la vegetación acuática en forma de perifiton (Maldonado-Ocampo, 2005; Mojica et al., 2012); en esta época, la abundante disponibilidad de alimento permite el rápido crecimiento y desarrollo de los individuos, así como la acumulación de grasas; con el inicio del periodo de aguas bajas en los meses de diciembre a marzo, correspondientes a niveles hídricos bajos, abandona las ciénagas y remonta los ríos en busca de los tributarios laterales, en una migración masiva conocida como «la subienda»; allí permanece durante todo el período seco y se alimenta de las algas que crecen adheridas a las rocas y palos sumergidos (perifiton); el gasto energético que implica remontar los ríos, sumado al cambio a una dieta menos rica, conlleva a la pérdida de peso de los individuos y al parecer, es uno de los factores desencadenantes de la maduración sexual; con la llegada de la temporada de lluvias, retorna a las ciénagas con las gónadas ya maduras en un desplazamiento que se conoce como «bajanza» (marzo – abril); durante el descenso tiene lugar el desove en los canales de los ríos y las aguas de desborde se encargan de transportar los alevinos a las planicies de inundación donde se reinicia el ciclo descrito; como estrategia reproductiva, la especie produce una enorme cantidad de huevos por hembra, adaptación que le permite recuperarse de mortalidades masivas

drásticas, derivadas de eventos naturales temporales adversos (Maldonado-Ocampo, 2005; Mojica et al., 2012).

3.2.2 Clasificación taxonómica.

Esta especie se clasifica según Steindachner, 1879.

Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Subfilo:	Vertebrata
Superclase:	Osteichthyes
Clase:	Actinopterygii
Subclase:	Neopterygii
Infraclase:	Teleostei
Superorden:	Ostariophysi
Orden:	Characiformes
Familia:	Curimatidae
Subfamilia:	Prochilodontinae
Género:	<i>Prochilodus</i>
Especie:	<i>P. magdalенаe</i>



Figura 1. *Prochilodus magdalенаe* (Foto original: Olaya-Nieto, 2002).

3.3 CIANOBACTERIAS

3.3.1 Generalidades.

Las cianobacterias o algas verde-azules, pertenecen al grupo de organismos más antiguos del planeta y poseen características que son comunes a bacterias y a las algas eucariotas, lo que les confiere cualidades únicas en cuanto a su fisiología, tolerancia a condiciones extremas y flexibilidad adaptativa. Han colonizado exitosamente los ecosistemas acuáticos y actualmente se encuentran dispersas en cuerpos de agua continentales (ríos, lagos, represas, etc.) y ambientes marinos, en forma unicelular o pluricelular (colonial o filamentosa) (Giannuzzi et al., 2011).

Estos organismos arcaicos no han sobrevivido por casualidad hasta nuestros días; son formas de vida extremadamente resistentes, tenaces y adaptables, que han logrado sobrevivir a todas las extinciones masivas que han asolado al planeta, y que hoy crecen en casi todos los tipos de hábitats, incluyendo los casquetes polares, los suelos húmedos, y aún en cavernas pobremente iluminadas (Giannuzzi et al., 2017)

Las cianoprocariontes se encuentran formando parte del plancton, distribuidas verticalmente en la columna de agua, encontrándose también cianobacterias benticas, que crecen adheridas a superficies como rocas, arena, sedimentos y plantas más grandes. Son productores primarios e indicadores sensibles de cambios ambientales en aguas lóxicas (Muñoz, 2008; Noffke et al., 2003).

3.3.2 Cianotoxinas

Las cianobacterias poseen la capacidad de producir toxinas, denominadas cianotoxinas; éstas pertenecen a diversos grupos de sustancias químicas, con mecanismos particulares de toxicidad. Algunas son neurotoxinas (Anatoxina, Saxitoxina), otras son tóxicas para el hígado como las hepatotoxinas (Microcistina, Nodularina y Cylindrospermopsina), y otras son lipopolisacáridos (LPS) que parecen causar dermatitis y problemas de

gastroenteritis. A pesar de su origen acuático, la mayoría de las cianotoxinas descritas parecen ser más tóxicas para mamíferos terrestres que para la biota acuática (Tabla 1) (Giannuzzi et al., 2011; Tomasini et al., 2012).

TABLA 1. Características generales de las cianotoxinas que se han identificado hasta la fecha sintetizadas por diversos géneros de cianobacterias (Modificado de Cong, 2015; Giannuzzi et al., 2011; Lucena, 2008).

CIANOTOXINA	ÓRGANO DIANA	GENERO DE CIANOBACTERIAS	EFEECTO RECONOCIDO
Péptidos cíclicos (HEPATOTOXINAS)			
Microcistinas	Hígado	<i>Mycrocystis, Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Nostoc, Hepalosiphon, Anabaenopsis</i>	Insuficiencia hepática y hemorragia hepática.
Nodularina	Hígado	<i>Nodularia</i>	Insuficiencia hepática y hemorragia hepática.
Alcaloides (NEUROTOXINAS)			
Anatoxinas	Sinapsis Nerviosa	<i>Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Aphanizomenon</i>	Parálisis muscular
Anatoxina-a(S)	Sinapsis Nerviosa	<i>Anabaena</i>	
Aplisiatoxinas	Piel	<i>Lyngbya, Schizothrix, Planktothrix (Oscillatoria)</i>	
Cilindrospermopsinas	Hígado	<i>Cylindrospermopsins, Aphanizomenon, (Umezakia)</i>	Insuficiencia hepática y renal
Lyngbyatoxin-a	Piel, área gastrointestinal	<i>Lyngbya</i>	Promoción de tumores e irritación de la piel.
Saxitoxinas	Axones neuronales, inhibe la conducción del impulso nervioso	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Lyngbya, Cylindrospermopsis</i>	Ataxia, convulsiones y parálisis.
Lipopolisacaridos (LPS)			
Dermatotoxina	Potencial irritante. Irritaciones de cualquier tejido expuesto	Todos los géneros	

Otro péptido bioactivo producido por cianobacterias, diferente en acción de las MC, es la β - methylaminoalanina (BMAA). Es un aminoácido no proteinogénico, es decir, no corresponde a los 20 aminoácidos que conforman proteínas en todos los organismos eucarióticos. La acumulación de este compuesto en las proteínas de las células nerviosas llega a durar toda una vida, proporcionando un mecanismo para la bioamplificación de la toxina.

Dicha toxina parece afectar principalmente al sistema nervioso, debido a que cuando llegan al cerebro forman depósitos desde el cual se libera lentamente a través del tiempo, generando daños celulares a nivel neuronal (muerte celular) (EHP, 2012).

Este hecho se evidenció en la década de 1960 en la isla de Guam, donde la población indígena de los Chamorros estuvo expuesta a altas concentraciones de BMAA, mediante el consumo de semillas de cícadras, de las cuales elaboraban tortillas; también consumían jabalíes y murciélagos frugívoros que consumían estas semillas. Se descubrió que la síntesis de este compuesto deriva de las cianobacterias del género *Nostoc*, las cuales establecieron un tipo de simbiosis con las raíces de la cícada. Cox y Sacks (2002), plantearon en este caso que, una exposición crónica alimentaria (cícada-jabalíes-murciélagos), generó una reserva neurotóxica en los tejidos de los cerebros de los chamorros, lo que condujo a enfermedades neurodegenerativas como esclerosis lateral amiotrófica o demencia de parkinsonismo.

3.3.3 Condiciones que favorecen el desarrollo de cianobacterias y cianotoxinas.

Condiciones ambientales especiales que incluyen: excesivo aporte de nutrientes (fósforo y nitrógeno) por acción antropogénica, intensidad luminosa (Época seca y de lluvia), alta temperatura (> de 20 °C), tiempo de residencia del agua, baja turbulencia, baja concentración de N disponible en relación con P, baja disponibilidad de CO₂ y elevado pH, contribuyen a la formación de floraciones de cianobacterias o blooms, los cuales en algunos casos son acompañados por la síntesis y liberación de cianotoxinas, así como compuestos volátiles (geosmina, β-metilisoborneol, etc), trayendo como consecuencia riesgos de intoxicación para el hombre y para la biota asociada a el ecosistema. Sin embargo, no hay un solo factor relacionado directamente con los episodios de floración y pueden ocurrir en una amplia gama de

condiciones ambientales (Ramírez-García et al., 2004; Giannuzzi et al., 2011; Rastogi y Sinha, 2014).

Las relaciones tróficas entre los organismos acuáticos también juegan un papel fundamental en la determinación de la dominancia de las cianobacterias, este fenómeno está relacionado a la presencia de una gama de toxinas que tienen propiedades alelopáticas, las cuales pueden influir en los procesos biológicos de otros microbios, fitoplancton o plantas acuáticas. La pérdida de biomasa, situación que también aporta al balance de la población de cianobacterias, se debe a la depredación, sedimentación hacia zonas afóticas (oscuras) donde no es posible realizar la fotosíntesis y el “lavado” por el arrastre de las corrientes de agua. Sin embargo, en ocasiones especiales las cianobacterias poseen la capacidad de utilizar eficientemente (organismos mejor adaptados) los rayos de luz, desde los más débiles, hasta los más fuertes; esta condición les ha permitido optimizar la fotosíntesis mediante la flotación en la columna de agua, cuya función se da gracias a la presencia de vacuolas de gas (UNESCO, 2009; Rastogi y Sinha, 2014).

Hasta la fecha, se han descrito más de 1000 compuestos de cianobacterias de varios géneros, muchos de los cuales son péptidos bioactivos, grupos alcaloides y LPS. Estos subproductos metabólicos se almacenan principalmente de forma intracelular y pueden liberarse en el agua, especialmente después de que la floración colapsa, lo que provoca efectos tóxicos potenciales para los organismos acuáticos y el hombre. A pesar del creciente aumento en los estudios sobre este fenómeno, se desconoce con precisión cual es el factor que desencadena la formación de toxinas durante una floración (Le Manach et al., 2018; Shapiro J, 1990).

3.3.4 Efectos ecotoxicológicos de las cianotoxinas.

Los florecimientos cianobacterianos representan un reto en la actualidad para la integridad ecológica, definida como la capacidad que poseen los

ecosistemas de mantener un balance adecuado en la biota que lo conforma (organismos vivos), comparado con aquellos hábitats poco estables, teniendo en cuenta los factores físicos del ecosistema (suelo, aire, agua etc) (Giannuzzi et al., 2011).

Con frecuencia y de manera prolongada, los cuerpos de agua que experimentan altas densidades de cianobacterias, traen consigo grandes consecuencias sobre la calidad del agua, las comunidades biológicas y los servicios del ecosistema, como se muestra en la Tabla 2. Algunos de estos efectos son directos, incluyendo la posible toxicidad de la cianotoxinas (CTX) en peces, invertebrados y otra fauna acuática, o bien, indirectos cuando hay una reducción en la cobertura vegetal sumergida debido a la floración de cianoprocariotas u otro grupo algal en particular (Giannuzzi et al., 2011).

TABLA 2. Efectos ecológicos de florecimientos de cianobacterias frecuentes o persistentes (Tomado de Giannuzzi et al., 2011).

EVENTO	RESPUESTA	EFECTO
Desarrollo de los florecimientos	Disminución de la transparencia	Limitación de luz para las plantas acuáticas, los organismos epífitos, algas bénticas y fitoplancton
	Aumento del pH	Efectos letales y sub-letales en poblaciones de peces
	Disminución del CO ₂	Interacciones competitivas alteradas entre el fitoplancton
	Aumento del tamaño de las algas	Efectos sobre el pastoreo del zooplancton y la eficiencia de la cadena trófica
	Producción de toxinas	Alelopatía, efectos letales y sub-letales sobre peces, zooplancton, macroinvertebrados, aves y otros vertebrados acuáticos
Colapso de los florecimientos	Hipoxia/Anoxia Amonio	Impacto letal o sub-letal en la biota (ej. muerte de peces)

Mediante diferentes estudios *in vitro* e *in situ*, ha sido posible evidenciar la presencia de cianotoxinas en ecosistemas acuáticos y en los organismos que en ellos habitan, demostrando el efecto de las Microcistinas (MC), en particular de MC-LR (Giannuzzi et al., 2011).

La proliferación de la cianobacteria *Microcystis* en los ecosistemas acuáticos, puede estar dominada por clones productores o no productores de MC; los peces y en general la vida acuática quedan expuestos, por inmersión y por

sus hábitos de alimentación, a una mezcla de compuestos bioactivos, entre ellos las MC (Le Manach et al., 2018).

3.4 Impacto sobre el ecosistema.

Las floraciones de cianobacterias se favorecen gracias a factores generales, asociados a características regionales como: la ubicación geográfica del cuerpo del agua y los impactos del cambio climático, factores locales como: el tipo y uso del suelo en la cuenca y las alteraciones hidrológicas de los cursos de agua. El aumento de los nutrientes, como consecuencia de factores antropogénicos (agricultura y diversas actividades industriales), es una de las principales causas de eutrofización en los ecosistemas límnicos. El aporte desmedido de nitrógeno y fósforo promueven el desarrollo de las floraciones de cianobacterias alterando los sistemas lóticos. La construcción de embalses, agricultura, y ganadería también favorecen el crecimiento de estos organismos fitoplanctónicos (Bonilla et al., 2015).

Estas floraciones o *blooms* de cianobacterias también pueden causar efectos perjudiciales sobre los ecosistemas acuáticos. Las densas capas de cianobacterias pueden acumularse como espumas y estelas gruesas, lo que resulta en la desoxigenación de las aguas del fondo. La falta de oxígeno conduciría a una mayor tasa de mortalidad en peces, mariscos, invertebrados acuáticos y poblaciones de plantas. Estas perturbaciones también pueden afectar a la fauna y flora bentónicas, ya que la penetración de la luz se reduce. Las floraciones tóxicas pueden inhibir el crecimiento de otros organismos fitoplanctónicos al competir por la luz solar y los nutrientes. También pueden suprimir el pastoreo por zooplancton. Esta serie de sucesos desencadenarían un desequilibrio en la estructura y composición de los sistemas acuáticos (Cong, 2015; Cantoral et al., 2017).

3.5 Bioacumulación.

La bioacumulación es el proceso por el cual la concentración de toxinas en el tejido resulta ser mayor que en el medio ambiente (Crettaz et al., 2017). Este

proceso se ha evidenciado en diferentes estudios, debido a que las toxinas pueden estar presentes en organismos acuáticos, haciendo que la ingesta de los productos pesqueros (caracoles y bivalvos, crustáceos y peces) y/o plantas, se convierta en una preocupación en la salud pública por el riesgo de intoxicaciones (Crettaz et al., 2017).

La bioacumulación de cianotoxinas en el pescado ha sido estudiada principalmente para MC. En general, se observa que peces omnívoros y planctívoros como en *Tilapia rendalii* e *Hypophthalmichthys molitrix*, tienden a bioacumular estas toxinas, al tomar células de cianobacterias directamente del agua. Muchos peces de agua dulce comestibles que forman parte de la alimentación humana, presentan bioacumulación (Magalhaes V F et al., 2001; Giannuzzi et al., 2017).

En términos de distribución de MC en órganos y tejidos, se ha informado que las mayores concentraciones se encuentran en el hígado, lo que demuestra que es realmente el órgano blanco de esta toxina. También es destacable las altas concentraciones de la toxina en el intestino de los peces, o en la hemolinfa y en el hepatopáncrea en los mariscos. Estos tejidos no se consumen normalmente (salvo en los mejillones y otros bivalvos) y su eliminación reduce significativamente la exposición a cianotoxinas en los seres humanos. Sin embargo, elevadas concentraciones de MC han sido detectadas en las partes comestibles de los peces (músculo) y mariscos (músculo o en su totalidad) (Sipia et al., 2001; Sipia et al., 2007; Herazo et al., 2016; Giannuzzi et al., 2017).

La acumulación de las MC en tejidos y órganos de peces se ha demostrado a través de diferentes estudios de campo (cuerpos de aguas con florecimientos de cianobacterias productoras de toxinas) y de laboratorio (Sipia et al., 2001; Sipia et al., 2007; Herazo et al., 2016; Giannuzzi et al., 2017). Estos autores han demostrado la presencia de MC en músculo de peces, siendo en general, más elevada, en los momentos donde los florecimientos han sido más

intensos (Giannuzzi et al., 2017). Sin embargo, también se ha encontrado MC en músculo de peces, transcurrido un tiempo después de que el florecimiento habría disminuido su intensidad. Esto sugiere que la toxina queda acumulada en el tejido muscular.

Asimismo, se han realizado ensayos de laboratorio tendientes a evaluar la bioacumulación, distribución y eliminación de MC en peces como posibles vías de entrada (figura. 2). En estos estudios, se plantean una variedad de situaciones de exposición de los peces a las cianobacterias y sus toxinas que intentan aproximarse a situaciones que pueden ocurrir en un florecimiento real (Giannuzzi et al., 2017).

De estos trabajos, se concluye que la acumulación de MC en el músculo del pescado depende de varios factores que incluyen: la especie de pez (algunos tienen mayor tendencia a la acumulación de MC o mecanismos de metabolización y eliminación de la toxina más pobres que otros), la variedad de MC a la que está expuesto (en algunos trabajos han encontrado presencia de MC-RR en músculo pero no de MC-LR ante una exposición a estas toxinas de manera conjunta), la forma en que está presente la toxina (florecimientos vivos, senescentes, toxina disuelta), el tiempo de exposición, entre otros (Crettaz et al., 2017).

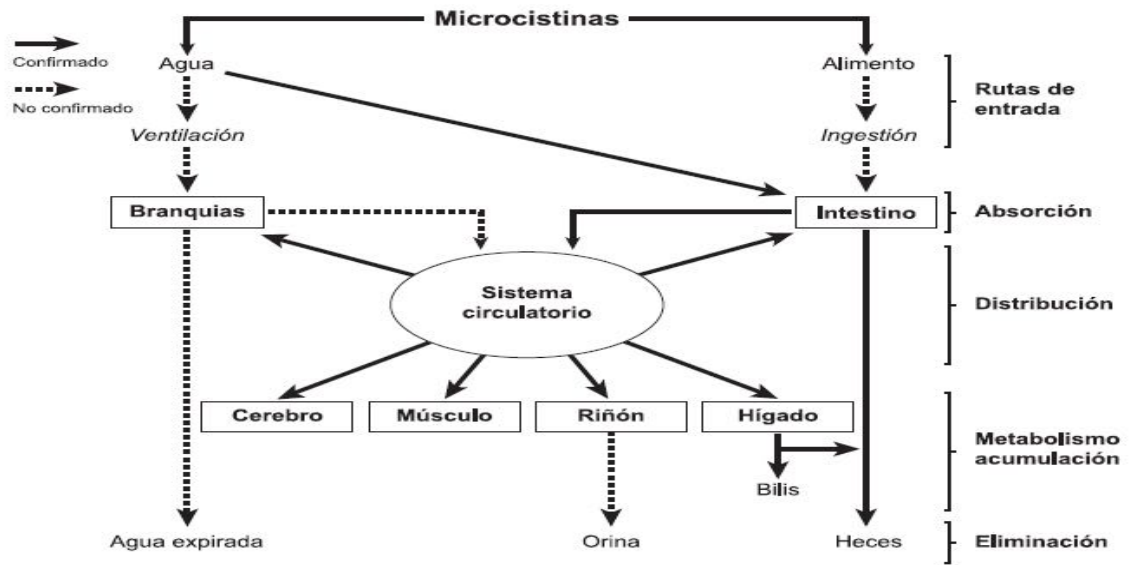


Figura 2. Representación esquemática de las vías de entrada, absorción, distribución, metabolismo, acumulación y excreción de MCs en peces. Tomado de Giannuzzi et al., 2017.

3.6 Biomagnificación.

El proceso por el cual las concentraciones de toxinas se incrementan a través de sucesivas interacciones en la red trófica se le conoce como biomagnificación (Crettaz et al., 2017). Este fenómeno se caracteriza por la transferencia de sustancias químicas de los alimentos a un organismo, como, por ejemplo, si un pez carnívoro incluye en su dieta a organismos omnívoros y fitoplanctófagos, los cuales tienden a bioacumular estas toxinas, debido a que, probablemente, células de cianobacterias son tomadas en forma directa del agua, lo que resulta en niveles más altos de MC en el pez carnívoro debido a procesos de biomagnificación. Sin embargo, diversos autores han demostrado la bioacumulación de cianotoxinas en diferentes niveles tróficos, mientras que son pocos los que han evidenciado la biomagnificación de cianotoxinas, tanto estudios in situ como in vitro (Crettaz et al., 2017).

3.7 Hepatotoxinas.

3.7.1 Microcistinas (MC's).

Las hepatotoxinas incluyen más de 80 variantes de MC's y ocho variantes de nodularinas, las cuales generan los tipos de intoxicación más comunes por cianobacterias tóxicas. Las microcistinas son heptapéptidos cíclicos, que han sido aisladas de especies como: *Microcystis*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria* y *Planktothrix*, mientras que las nodularinas son pentapéptidos cíclicos, producidas por especies como *Nodularia spumigena*. De las variantes químicas conocidas, las más importantes son: microcistinas, cilindrospermopsina y nodularina (Cantoral et al., 2017; Smith et al, 2008).

La microcistinas (MC's), tiene una estructura molecular cíclica con siete aminoácidos. Dentro de estos aminoácidos, el aminoácido Adda (2S, 3S, 4E, 6E, 8S, 9S) -3-Amino-9-metoxi-2, 6, 8-trimetil-10-fenildeca-4, ácido 6-dienoico) se asocia con la toxicidad de la molécula a través del dieno conjugado, como se muestra en la figura 3. Los X y Z son aminoácidos variables que identifican y nombran diferentes variantes. El aminoácido X suele ser arginina (R), tirosina (Y) o leucina (L), y el aminoácido Z es comúnmente arginina (R), metionina (M) o alanina (A). Por lo tanto, la MC que tiene leucina y arginina puede identificarse como MC-LR (Cong, 2015).

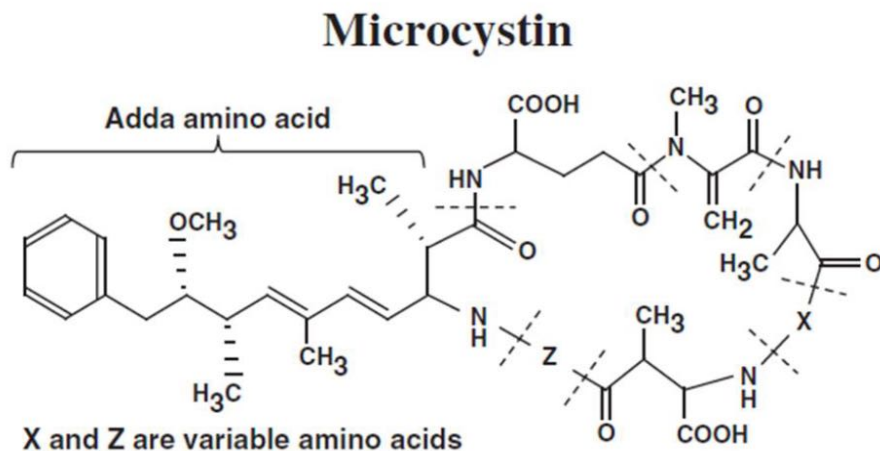


Figura 3. Estructura química de las microcistinas (Cong, 2015)

3.7.2 Toxicidad de las microcistinas (MC).

Las MC actúan principalmente a través de la inhibición de las proteínas fosfatasa 1 y 2A. Una vez ingeridas, las MC se transportan por todo el organismo y penetran a la célula a través de las membranas de los polipeptidos transportadores de aniones orgánicos (OATP). Las células diana primarias para las MC son las del hígado, donde los OATP median su absorción en los hepatocitos; sin embargo, estas toxinas pueden afectar a otros tejidos (riñón, tejido reproductivo, colon, cerebro) que contienen los OATP apropiados (1A2, 1B1, 1B2, 1B3) (Fischer et al., 2005; Chen et al., 2015).

La expresión de OATP en la barrera hematoencefálica puede explicar los síntomas neurológicos asociados con la intoxicación humana por MC sucedida en Brasil. La inhibición por microcistina de las proteínas fosfatasa de eucariotas, serina/treonina produce una hiperfosforilación de las proteínas reguladoras clave en el proceso de transducción de señales que controla la organización del citoesqueleto. Ese daño se acompaña de estrés oxidativo en el hígado, riñón, cerebro y órganos reproductivos (Carmichael y Boyer, 2016).

Existen estudios que han demostrado alteraciones histopatológicas agudas, en diversas especies de peces tras la exposición a *Microcystis aeruginosa* y/o variantes de MC purificadas; estas lesiones fueron más grave en hígado y riñón, con disociación de hepatocitos, degeneración en el hígado y dilatación de la cápsula de Bowman en el riñón. Además, en peces omnívoros como la Tilapia (*Oreochromis sp.*) y la Tenca (*Tinca tinca*), las MC producen efectos tóxicos en otros órganos (corazón, branquias y el tracto intestinal). El grado a que estos efectos se observaron depende de la ruta de exposición y diferencias en sensibilidad y órganos diana secundarios entre especies (Puerto et al., 2010).

3.8 Histopatología asociada a MC en branquias e hígado.

En un ambiente acuático degradado, donde particularmente los contaminantes se encuentran en concentraciones crónicas, se producen cambios en la estructura de diversos órganos (hígado, branquias, riñón, gónadas), que conllevan a alteraciones fisiológicas en los mismos. Por ello, los estudios histopatológicos de diferentes órganos constituyen una herramienta útil y valiosa para identificar el estado de salud en general de los peces y reflejar los efectos de la exposición a contaminantes (SRH, 2007).

En los peces, las alteraciones histológicas generadas por las MC están bien documentadas. A través de ensayos de laboratorio (inmersión, inyección intraperitoneal y alimentación por sonda), se ha podido observar y evaluar las lesiones en diversos órganos, como intestino, riñón, hígado, branquia, bazo y corazón (Andrinolo et al. (2008), Prieto et al. (2008), Gutierrez et al. (2012) y Guzmán et al. (2017).

3.8.1 Alteraciones histológicas en branquias.

Las branquias presentan una gran superficie de interacción al animal con el medio ambiente, el intercambio gaseoso y es crucial en el proceso de osmoregulación. Según SRH (2007), Prieto et al. (2008), Gutierrez et al. (2012) y Guzmán et al. (2017), entre las alteraciones histológicas asociadas a MC se encuentran: atrofia de lamelas, pérdida de función lamelar, hiperemia, fusión de lamelas, degeneración en lamelas y telangiectasia. Debido a esta condición, las branquias son consideradas de vital importancia para evaluar los efectos de cianotoxina sobre los organismos.

Atrofia (acortamiento de lamelas): La atrofia de lamela se observa como un acortamiento de esta, este cambio puede interpretarse como un proceso de reparación posterior a un grave daño en la integridad de la lamela. Sin embargo, esta patología puede progresar e involucrar la funcionalidad de las branquias si la reparación del epitelio no sucede (Huancaré, 2014) (figura 4).

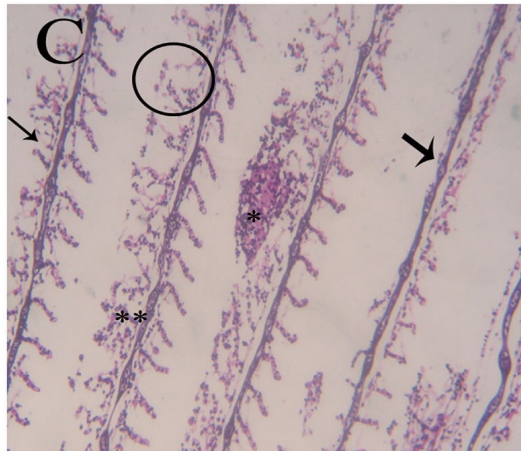


Figura 4. Fotomicrografías de branquias de *Cyprinus carpio* (C) Grupo tratado con PF (Fipronil): atrofia lamelar (flecha delgada), degeneración lamelar (círculo), necrosis epitelial y desprendimiento (*), ruptura de laminillas primarias (**) y pérdida de laminillas secundarias (flecha gruesa) ampliación x300, H & E. Barra de escala 100 μ m (Tomado de Qureshi et al., 2016).

Perdida de función lamelar: Debido a su contacto íntimo con el agua, la superficie lamelar de las branquias es vulnerable a sufrir daños de cualquier agente irritante, disuelto o en suspensión en el agua. Por esta razón se generan cambios patológicos (disfunción) en las branquias, trayendo como consecuencia un desequilibrio en la homeostasis (osmorregulación, respiración) de los peces (Roberts, 1981) (figura 4).

Hiperemia: Se emplea para describir un aumento del volumen de la sangre en un órgano o tejido. Puede suponer un aumento del tamaño y peso visceral y cuando es muy intensa, puede provocar necrosis (Buyo, 2008) (figura 5).

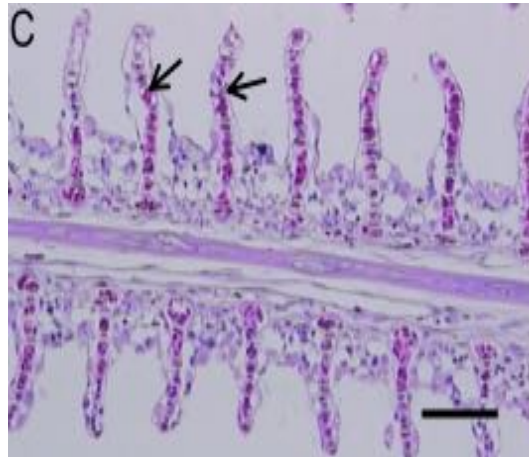


Figura 5. Hiperemia y edema lamelar (flecha) en branquia de Tilapia (*Oreochromis niloticus*) expuesta a *Cylindrospermopsis* estándar (pureza $\geq 95\%$). Barra de escala de 100 μm . (Tinción con H&E) (Tomado de Gutierrez et al., 2012).

Fusión de lamelas: Este cambio patológico se caracteriza por la unión o adhesión de una o más células epiteliales de las laminillas adyacentes, lo que resulta en la oclusión del espacio interlamelar (Ostland et al., 1990) (figura 6).

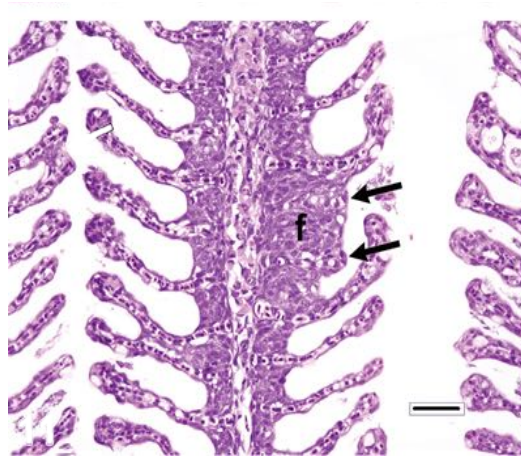


Figura 6. Sección de branquias de una trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* expuestas experimentalmente al quitosano. Presentan atrofia lamelar focal (flechas negras), fusión lamelar focal (f). Se observa el relleno de los surcos interlamelares mediante la proliferación de las células del pavimento y las adherencias lamelares (la unión de las láminas adyacentes con poca o ninguna evidencia de proliferación celular), como un indicador específico de pavimento agudo necrosis celular (Bullock et al., 2000). H&E, barra = 25 μm (Tomado de Wolf et al., 2015).

Degeneración de lamelas: La degeneración se evidencia cuando hay pérdida de la estructura en las branquias, caracterizada por la reducción del área superficial donde se dan los procesos de respiración, generando como consecuencia la disminución de la superficie de contacto de los receptores disponibles para patógenos o toxinas, como una respuesta inmunológica de los peces (Ferguson, 2006) (figura 4).

Telangiectasia o aneurisma: Es una respuesta aguda a la injuria branquial, la cual refleja la pérdida de la integridad vascular de la branquia, trayendo como consecuencia la dilatación de los capilares y acumulación de eritrocitos (Godoy, 2013) (figura 7).

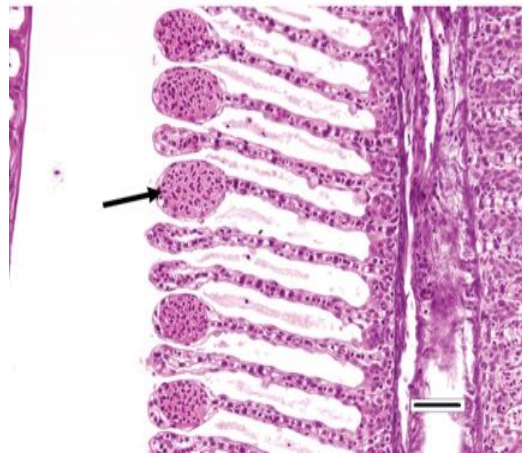


Figura 7. Sección de branquias extirpadas de salmón adulto del Atlántico *Salmo salar*. La telangiectasia (flecha) se caracteriza por la distensión focal, llena de sangre (aneurismática) de los capilares lamelares. Tales lesiones a menudo son inducidas inadvertidamente en el sacrificio. H&E, barra de = 50 μ m (Tomado de Wolf et al., 2015).

Inflamación: Es la respuesta básica de los tejidos alterados a través de la sucesión de modificaciones que se presentan después de una agresión de cualquier tipo, a condición de que esta no sea lo suficientemente intensa como para dañar el tejido, esta alteración es común en todos los vertebrados (Roberts, 1981) (figura 8).

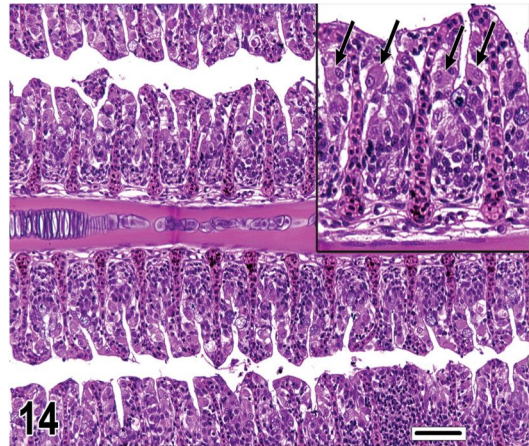


Figura 8. La hiperplasia de células de cloro como componente de la branquitis proliferativa (flechas en el recuadro) de tilapia adulta *Oreochromis* sp. Grandes, poligonales, rosadas con núcleos excéntricos. Los surcos interlamelares son adicionalmente lleno de células inflamatorias mononucleares. H&E, barra de = 50 μ m. (Imagen de Gaikowski et al. 2013, modificada y reimpressa con permiso) (Tomado de Wolf et al., 2015).

3.8.2 Alteraciones histológicas en el hígado

El hígado es el órgano metabólico dónde se realizan todos los procesos de biotransformación de los xenobióticos; dicha capacidad se da gracias a su posición estratégica en el sistema circulatorio. Al superar el nivel de detoxificación del órgano, estos tóxicos tienden a acumularse, modificando la estructura hepática. Entre las alteraciones más comunes generadas por las MC se encuentran: degeneración plumosa, necrosis, vacuolización, hepatocitos binucleados, hemorragias, dilatación de sinusoides, turgencia, células picnoticas y pérdida de macrófagos, (SRH, 2007; Prieto et al., 2008; Guiannuzzi et al., 2017 y Guzmán et al., 2017).

Degeneración plumosa: Esta condición está asociada a la colestasis hepática, la cual consiste en la disminución en el flujo de bilis debido a una obstrucción extrahepática o bien, a un defecto en la secreción de bilis por parte del hepatocito. La alteración en el flujo de bilis puede conducir inevitablemente a la retención intracelular de los constituyentes biliares (Jaramillo et al., 2006) (figura 9).

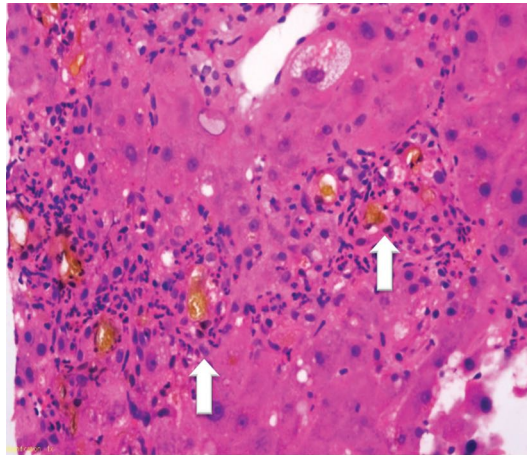


Figura 9. Reacción ductular prominente en colestasis aguda (flecha). Se puede observar inflamación con neutrófilos en el espacio porta y tapones biliares. Ampliación 400X (H & E) (López R, 2016).

Necrosis: La necrosis celular se caracteriza por presentar, la cromatina condensada (picnosis), fragmentada (cariorraxis), retracción y disolución del núcleo (cariólisis), además de citoplasma homogéneo y pérdida de la citoarquitectura (Huancare, 2014) (figura 10).

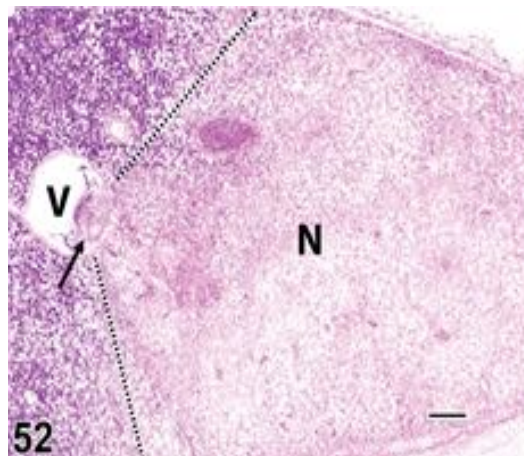


Figura 10. Infarto grande en el hígado del tronco de un pez globo *Cyclopterus lumpus*. La obstrucción de una vena hepática (V) por un trombo (flecha) con necrosis extensa (N) del parénquima hepático. Las líneas punteadas identifican los límites entre las áreas del hígado afectadas y las menos afectadas. La necrosis extensa que afecta todo el hígado puede ocurrir como un efecto de la toxicosis por microcistina. H&E, barra de = 250 μ m. (Wolf et al., 2014).

Vacuolización lipídica o Esteatosis: Se caracteriza por la presencia de grasa en el hígado. Es reconocida morfológicamente por dos patrones, la degeneración macrovesicular caracterizada por la presencia de una gran vacuola que desplaza el hepatocito y la degeneración microvesicular (pequeñas vacuolas dispersas en el citoplasma) (López, 2014) (figura11).

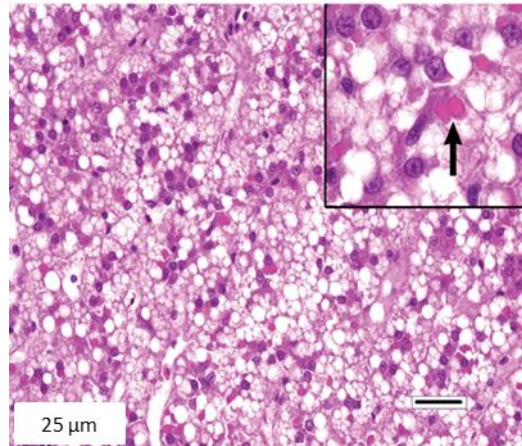


Figura 11. Hígado de piraña de vientre rojo cautiva *Pygocentrus nattereri*, con aumento de vacuolación de tipo lipídico. Además, muchos hepatocitos contienen pequeños glóbulos intracitoplasmáticos esféricos (flecha en recuadro). Aunque la composición precisa, la causa y la importancia patológica de estas inclusiones eosinofílicas a menudo se desconocen, no es raro observar tales gotas en los hígados de peces clínicamente sanos. Barra = 25 μ m (H & E). (Tomado de Wolf et al., 2015).

Hepatocitos binucleados: Los hepatocitos binucleados son células que no han completado el proceso de citocinesis. Sin embargo, son la evidencia de la alta capacidad regenerativa del tejido hepático, como respuesta fisiológica a la exposición de un agente tóxico o xenobiótico (Repetto et al., 2017) (figura 12).

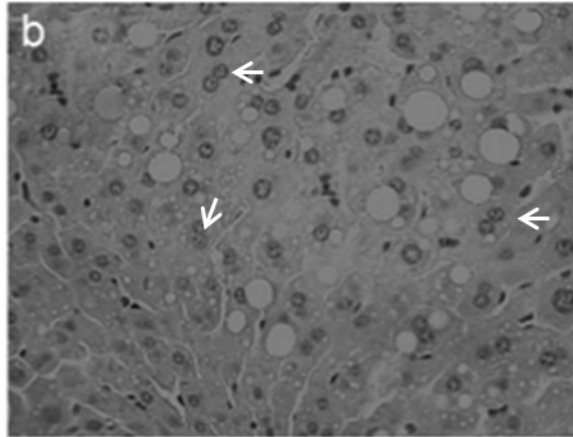


Figura 12. Secciones de hígado de ratón que fueron tratados i.p. durante 30 días con 25 mg de MC-LR puro/kg. La microfotografía muestra que los ratones presentaron discoloración nuclear y un alto grado de binucleación (flechas) teñidas con H & E, ampliación a 400x (Tomado y modificado de Andrinolo et al., 2007).

Hemorragia: Se define como la salida de la sangre por su conducto normal o las venas debido a la ruptura de esta, por una alteración. Cuando el agente agresor es un xenobiótico, se caracteriza por un importante daño al hígado con alteraciones del citoesqueleto, apoptosis y amplias necrosis que derivan en hemorragias intrahepáticas (Sedan et al., 2013; Godoy, 2014) (figura 13).

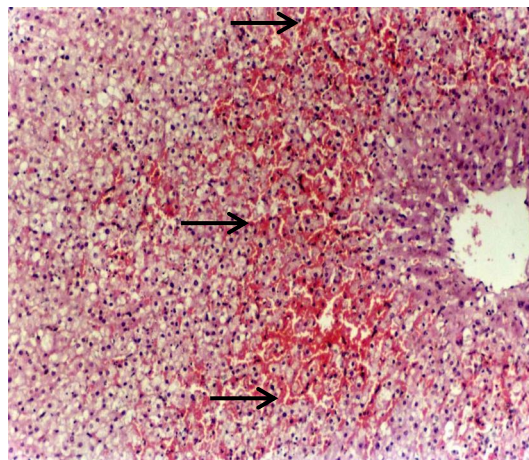


Figura 13. Corte histológico de hígado (equino) donde puede observarse vacuolización severa, degeneración de hepatocitos y hemorragia severa a nivel centrolobulillar (flecha) Bar = 50 μ m (H & E) (Tomado de Robles et al., 2016).

Dilatación de sinusoides: Los canales que conducen la sangre a las venas hepáticas y que nutren a los hepatocitos son los llamados sinusoides hepáticos. La dilatación sinusoidal o bloqueo ocurre cuando las fenestraciones se aumentan a tal grado que las células sanguíneas quedan atrapadas o logran pasar al espacio intersticial de Disse (espacio perisinusoidal), trayendo como consecuencia un ensanchamiento del hígado, lo cual genera un choque sistémico en el organismo (Jaramillo et al., 2006) (figura 14).

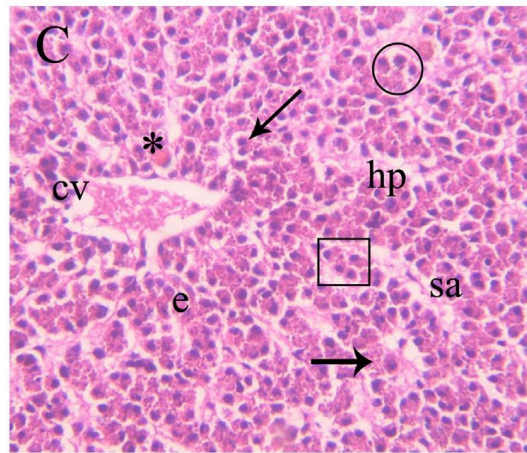


Figura 14. Fotomicrografías del hígado de *Cyprinus carpio* (C) Grupo tratado con FP: contracción de la vena central (cv), formación ceroides (*), contracción citoplasmática (flecha delgada), hiperplasia (hp), alteración sinusoidal (sa), hipertrofia nuclear (círculo), espacio sinusoidal ensanchado (rectángulo) y hemorragia (flecha gruesa) e infiltraciones eosinofílicas (e). FP: fipronil, BPFN: buprofezin. Ampliación 600X, H & E. Barra de escala 100 μ m (Tomado de Qureshi et al., 2016).

Turgencia: La turgencia es el abultamiento o hinchamiento de las células; esta condición se caracteriza por la visualización del retículo endoplasmático liso afectado, al retículo endoplasmático rugoso dilatado, los ribosomas no ligados a la membrana y células balonizadas, apareciendo como cambios estructurales no específicos, de intensidad variable, en respuesta a un daño hepático (Cascales y Ferrándiz, 1987) (figura 15)

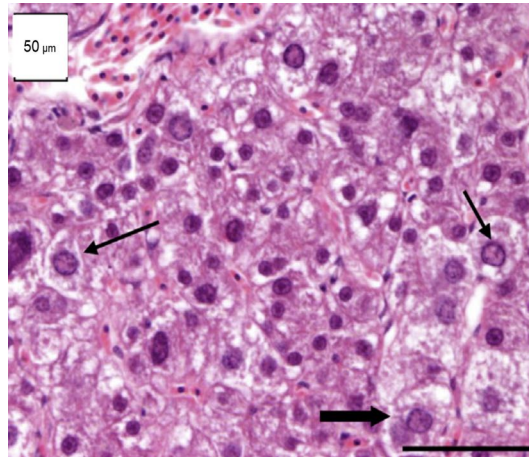


Figura 15. Tejido hepático de Sable negro (*Aphanopus carbo*) con pleomorfismo hepatocelular y nuclear que muestra hepatocitos agrandados con citoplasma granular disperso (turgencia) (flecha sólida) y núcleos hipertrofiados con cromatina gruesa (flechas). Barra de = 50 μm (H & E) (Feist et al., 2015).

Perdida de macrófagos: Los macrófagos o células de Kupffer son células que se encargan de eliminar los formes de la sangre, endotoxinas y xenobióticos. Cuando estos agentes están presentes se triplica la cantidad de estas células. Sin embargo, cuando el agente tóxico o agresor se ha establecido, el número de células de Kupffer disminuye significativamente coincidiendo con la aparición de una alteración en la función reticuloendotelial y fagocítica del hígado (Clária y Titos, 2004).

3.9 Intoxicación con MC.

La toxicidad de las MC es acumulativa. Una dosis oral única no genera daños a nivel hepático, mientras que la aplicación de una dosis más baja durante más tiempo contribuye al aumento del peso del hígado hasta en un 84%, y por lo tanto tiene el mismo efecto que una dosis oral única 16 veces mayor, debido a que las MC, poseen un enlace covalente irreversible que inhibe la acción de las fosfatasas proteicas y al daño sustancial de la estructura celular (Chorus y Falconer, 1998).

Existen dos tipos de intoxicación principalmente: aguda y crónica; estos dos tipos de intoxicación se diferencian principalmente en el tiempo de exposición

a la toxina y en la dosis, siendo usualmente los casos agudos aquellos donde el individuo está expuesto en un período muy corto de tiempo y a dosis altas generalmente, mientras que los casos crónicos se producen por contactos frecuentes de éste con la toxina durante un tiempo prolongado y en general a dosis bajas (Giannuzzi et al., 2017).

Debido a estas características diferentes en cuanto a la forma de exposición en uno y otro caso, en esas circunstancias, los sistemas y tiempos de recuperación con los que cuenta el organismo para manejar esta intoxicación, son diferentes; es por ello que los cuadros que se presentan en una intoxicación aguda y en una crónica, son diferentes (Guzmán et al., 2017).

3.9.1 Intoxicación aguda con MC.

Son numerosos los casos reportados sobre intoxicación con MC en animales domésticos, salvajes, ganado, aves y peces (intoxicaciones graves e incluso fatales), debido a floraciones de cianobacterias, generalmente después de haber bebido agua contaminada.

En general, el hígado es el órgano más afectado, mostrando una necrosis hemorrágica extensa, disrupción sinusoidal, fosforilación de las enzimas hepáticas, desestructuración del citoesqueleto y pérdida del potencial de la membrana mitocondrial, mediante el aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y el agotamiento del glutatión. Estas alteraciones están precedidas cuando la toxina es reconocida y transportada a través de la membrana celular mediante los OATP (Moreno et al., 2003; Rastogi y Sinha, 2014).

3.9.2 Intoxicación crónica con MC.

Este tipo de intoxicación se caracteriza principalmente por no presentar una sintomatología clara y específica, debido a que la población puede estar expuesta de forma intermitente y periódica a las cianobacterias y sus toxinas.

Dicha exposición se puede dar por vía oral (agua recreacional y de bebida) y por la ingesta de productos contaminados (Giannuzzi et al., 2017).

Los estudios de toxicidad subcrónicos y crónicos en mamíferos son muy escasos, principalmente por la poca disponibilidad y alto costo de los patrones de toxinas. Sin embargo, ensayos realizados en ratones demuestran una alteración progresiva a nivel hepático tras la administración oral continua de MC. En peces, la exposición crónica a floraciones de cianobacterias tóxicas condujo a alteraciones iónicas y a una reducción del crecimiento. Otros aspectos importantes por considerar, es la promoción de tumores tras exposición a MC; este hecho se evidenció en ratas cuando se les suministró MC-LR vía intraperitoneal (i.p) y tópica durante varias semanas, aunque las microcistinas por sí solas aún no demostraron ser carcinogénicas (Chorus y Falconer, 1998; Moreno et al., 2002).

En peces como la Tilapia (*O. niloticus*), la exposición subcrónica a MC-LR procedente de floraciones naturales de cianobacterias administradas conjuntamente con la comida (simulando la vía natural de exposición), produce alteraciones histopatológicas en hígado, riñón y, en menor medida en branquias y células de la mucosa intestinal. En branquias, se observaron hiperemia generalizada y en el intestino hiperplasia y células picnóticas (Prieto et al., 2008).

Giannuzzi et al. (2017) reportaron la intoxicación sub-crónica por inyección i.p de 25 µg/Kg peso de MC-LR cada 48 hrs durante un mes a ratones, que produjeron alteraciones histológicas importantes en la arquitectura hepática como la dilatación notoria de sinusoides, macrovacuolas lipídicas intracitoplasmáticas y binucleación acompañada de discariosis nuclear.

Los problemas de salud asociados a la intoxicación por toxinas cianobacterianas, se basan en numerosos reportes que han demostrado la fuerte incidencia que tienen estas sustancias sobre la salud humana y bienestar animal.

El primer caso de intoxicación letal en animales fue documentado en Australia en el año 1878, cuando el ganado consumió agua de un lago altamente infestado con cianobacterias, en ese momento se describió "una nata como pintura verde al óleo de 2 a 6 pulgadas de espesor no apta para el ganado bovino y otros animales, que produjo una rápida y a veces terrible muerte" del ganado bovino, cerdos y perros que habían consumido la nata de un afloramiento de *Nodularia spumigena*. Los casos registrados hasta ahí incluyen al ganado ovino, bovino, caprino, porcino, perros, peces, roedores, anfibios, aves acuáticas, murciélagos, cebras y rinocerontes (Chorus y Falconer, 1998).

En Canadá, en los años 1924, 1945, 1948 y 1949 se reportaron los primeros eventos de intoxicación en ganado, caballo, cerdos, y gato, siendo las especies *Anabaena* sp. y *Microcystis aureginosa*, las principales responsables de estos envenenamientos. Hammer (1968) reportó que en 1951 un caballo y nueve perros murieron después de una hora, tras la ingesta de agua contaminada con florecimientos algales en el lago Delfin-Canadá.

En estudios de caso más recientes reportado por Giannuzzi et al., 2017 en establecimientos ganadero de Argentina encontraron hallazgos significativos en bovinos, siendo estos los principalmente afectados en este país. Se registraron 4 casos de intoxicación con *Microcystis aureginosa*, al encontrarse células de esta especie en el contenido ruminal de los animales. Los signos clínicos observados inicialmente fueron agresividad, incoordinación de movimientos, diarrea, disnea y muerte. Los parámetros bioquímicos que resultaron con niveles excesivamente elevados de bilirrubina, γ GT (gamma glutamil transferasa) y GOT (transaminasas).

Los hallazgos de necropsia se circunscribieron al hígado donde pudo observarse hepatomegalia, patrón lobulillar acentuado y sangre libre en intestino. El estudio histopatológico reveló la presencia de necrosis hemorrágica centrolobulillar, con proliferación de conductos biliares.

Finalmente, en el 25% de los casos informados se reportaron muertes súbitas, donde murieron 73 animales de un total de 170 en un lapso de 24 hrs.

En el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS), un cuerpo de agua natural en Colombia, Herazo et al., 2016 reportaron la presencia de MC a concentración de $1,524 \pm 0,548 \mu\text{g.L}^{-1}$ en agua y $0,109 \pm 0,031 \mu\text{g.g}^{-1}$ en tejido muscular de tilapia nilótica (*O. niloticus*), datos que superaron hasta 5 veces la ingesta diaria tolerable (IDT) definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS); Guzmán et al., 2017, reportaron alteraciones histológicas asociadas a MC en hígado y branquia de Tilapia (*O. niloticus*) en el CCBS, las cuales se clasificaron en inespecíficas y específicas como se presentan en la Tabla 3.

TABLA 3. Lesiones asociadas a microcistinas en órganos diana (branquias e hígado) de peces (Prieto et al., 2008; Gutierrez et al., 2012; Guiannuzzi et al., 2017).

Lesiones histopatológicas en branquias por MC		Lesiones histopatológicas en hígado por MC	
Inespecíficas	Específicos para MC	Inespecíficas	Específicos para MC
Degeneración del filamento	Atrofia lamelar (acortamiento)	Inflamación	Degeneración plumosa
Inflamación		Infartos biliares	Necrosis
Hemorragia	Perdida de la función lamelar	Hepatomegalia	Vacuolización
Necrosis lamelar		Desestructuración tisular	Hepatocitos binucleados
Hiperplasia de las laminillas	Hiperemia	Melanomas	Hemorragia
Hiperplasia	Fusión de lamelas	Infiltraciones	Dilatación de sinusoides
Perdida de citoplasma	Degeneración de lamelas	Tumores	Turgencia
Desestructuración tisular	Telangiectasia		

Los problemas de la salud humana asociados con intoxicación, están relacionados con el agua de consumo; la ingesta de productos contaminados (peces, moluscos, crustáceos, etc.) o por contacto directo con aguas contaminadas, de este modo son varios los casos que han evidenciado la gravedad del asunto (Cong, 2015) (Tabla 4).

TABLA 4. Casos documentados de intoxicaciones humanas asociadas con cianotoxinas (Tomado de Cong, 2015).

Fuente de exposición	Año	País	Descripción del caso
Agua potable	1931	USA	Enfermaron alrededor de 8,000 personas cuya agua potable provino de los afluentes del río Ohio, donde había un gran florecimiento de cianobacterias
	1968	USA	Se documentó la presencia de enfermedades gastro intestinales (GI) en asociación con floraciones masivas de cianobacterias
	1979	Australia	Enfermaron gravemente y fueron hospitalizadas 141 personas asociadas con floraciones tóxicas en el reservorio de agua potable, que había sido tratada con sulfato de cobre
	1988	Brasil	Enfermaron alrededor de 2.000 personas y murieron 88 asociadas con cianobacterias tóxicas en el depósito de agua potable después de una inundación
	1993	China	Se encontró una mayor incidencia de cáncer de hígado en 13 poblaciones que usan aguas superficiales donde se encontraban cianobacterias en lugar del agua subterránea
	1994	Suecia	Enfermaron (calambres gastrointestinales y musculares) 121 (de 304) habitantes de una aldea cuyo suministro de agua potable se cruzó accidentalmente con agua de río no tratada y contaminada con cianobacterias.
Agua recreativa	1959	Canadá	Enfermaron (dolor de cabeza, dolores musculares, gastrointestinales) 13 personas después de la exposición recreativa a la floración de cianobacterias
	1989	Inglaterra	Enfermedad en soldados entrenando en agua con floraciones cianobacterianas; 2 desarrollaron neumonía grave.
	1995	Australia	Humanos enfermos (gastrointestinal) asociado con el contacto recreativo con aguas con cianobacterias.
	2004	USA	Enfermedad GI e irritación dérmica asociada con la exposición recreativa a un evento CHAB en Nebraska.
Agua utilizada para hemodiálisis.	1974	USA	Escalofríos, fiebre, hipotensión en 23 pacientes en diálisis en Washington, D.C., asociados con cianobacterias en una fuente de agua local.
	1996	Brasil	Muerte de 52 pacientes en diálisis y enfermedad de otras 64 asociadas con toxinas de MC en el agua utilizada para diálisis.

3.10 TÉCNICAS HISTOLÓGICAS.

En términos generales la técnica histológica incluye una serie de procesos químicos para observar las células al microscopio tal como se presentaban en el momento de su fijación. La fijación mediante la inmersión en soluciones químicas como el formaldehído, coagulan el protoplasma. La rapidez en la acción es esencial, para evitar que las figuras de los tejidos y células se distorsionen ante la autólisis; la perfusión del fijador a través de los canales vasculares es preferible a la inmersión de los tejidos enteros. Para formar bloques donde los tejidos están infiltrados se utiliza diferentes medios:

parafina, celiódina (o congelación), se solidifican formando un bloque que contiene el tejido. Con un micrótopo se obtienen cortes de los bloques de 4 a 5 µm. Las secciones del tejido se tiñen una vez han sido fijadas en las láminas de vidrio. La tinción puede hacerse con una variedad de colorantes o con ciertas sales metálicas (Windle, 1977).

Algunos componentes celulares, sobre todo la cromatina nuclear son basófilos (tienen afinidad con los colorantes básicos, como la hematoxilina). Otros componentes de las células y sustancias intercelulares son acidófilos (tiñen con colorantes ácidos, como la eosina). Los cortes coloreados se transparentan con aceites o solventes, como el xilol. Finalmente se cubren con una gota de un medio transparente de montaje que tiene casi el mismo índice de refracción que la lámina de vidrio y el portaobjetos entre las cuales se preserva el tejido. La técnica histológica que acaba de describirse es la que más se utiliza en las preparaciones que se estudian en clase (Windle, 1977).

“El método libre de xilol representado en la figura 16, es equivalente al procesamiento rutinario de tejidos” (Mojica, 2012), pero menos tóxico, ya que se ha demostrado que esta sustancia constituye riesgo teratogénico (American Public Health Association, 1975).

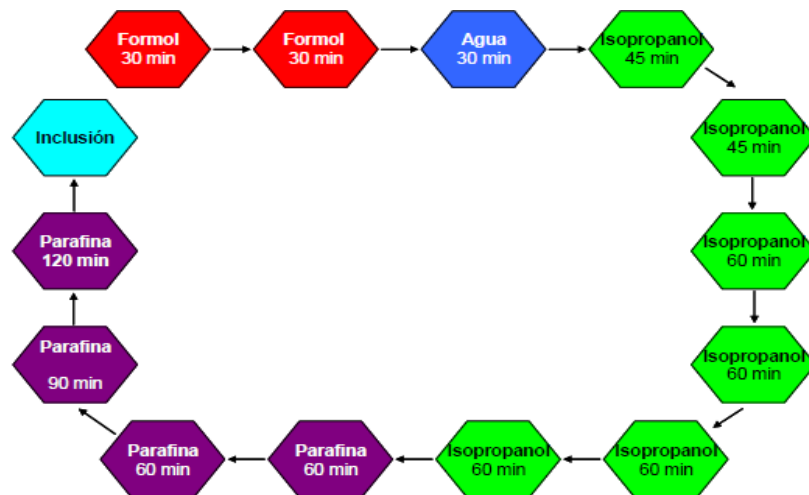


Figura 16. Procesamiento libre de xilol (Mojica, 2012).

En Suecia, Fakelholm (1996) desarrolló un método de procesamiento de tejidos libre de xilol encaminado a afrontar los problemas actuales de los laboratorios de patología: disminución de costos, disminuir el tiempo de procesamiento y mejorar el ambiente laboral. El método consiste en utilizar tejidos fijados en formol y procesarlos realizando un paso de 30 minutos en agua y posteriormente seis baños sucesivos en alcohol isopropílico terminando en cuatro pasos por parafina (Fakelholm, 2001; Mojica, 2012).

Para realizar el proceso de desparafinización de las láminas antes de la coloración, se utiliza calor y agua mezclada con detergente para platos, el cual agiliza el proceso comparado con el método convencional que utiliza incubadora y posteriormente xilol y rehidratación con alcohol etílico (Mojica, 2012).

4 MATERIALES Y MÉTODOS.

Estudio descriptivo de carácter retrospectivo, sobre la frecuencia y grado de severidad de las alteraciones en tejido hepático y branquial de (*P. magdalenae*) causado por MC, con muestreos aleatorio simple.

4.1 ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS), Departamento de Córdoba, Colombia (figura 17). Este se encuentra ubicado sobre la margen derecha del Río Sinú, al Norte del Departamento de Córdoba entre los 75° 55' y 75° 35' de longitud Oeste y los 8° 47' y 9° 15' de latitud Norte (Mogollon, 2011) .

Las ciénagas objetos de estudio en el CCBS, fueron San Sebastian (SSEB) y Momil (MM) en las cuales se realizaron muestreos entre septiembre y marzo del 2018, abarcando dos periodos climáticos predominantes en la región (época seca y época de lluvias).

La Ciénaga de San Sebastián (figura 18), se encuentra a una Latitud 9°13'26.89"N y a una Longitud de 75°46'31,44"W, es el sistema lenítico más cercano al río Sinú conectado a este por el Caño Aguas Prietas. Al estar tan cerca del río, es un sistema que modifica fuertemente sus niveles, ya que cuando el CCBS disminuye su volumen, como ocurre después de noviembre, lo hace a través del Caño Aguas Prietas. Al mismo tiempo por esta vía es que el CCBS recibe importantes aportes del río cuando los niveles del mismo se ven elevados en meses de mayor producción eléctrica en el desembalsado de Urra I. Esta ciénaga está cerca del casco urbano de San Sebastián por lo que recibe directamente las aguas servidas del municipio (Mogollon, 2011).

La Ciénaga de Momil (figura 19) se encuentra ubicada al norte del Departamento de Córdoba, pertenece a la sub-región de la Ciénaga Grande del Bajo Sinú, entre las coordenadas geográficas a los 9°14'16" LN y los 75°36'30" LW, con una altura de 20 msnm (Mogollon, 2011).

Las condiciones que presenta el CCBS corresponden a un cuerpo de agua rico en materia orgánica, en su mayoría aportada por la entrada constante de nutrientes provenientes de actividades agrícolas (Gómez y Cajiao, 1991; Salazar, 2008; Aguilera, 2011). El continuo aporte de nutrientes que genera esta actividad favorece el desarrollo de florecimientos de cianobacterias en este cuerpo de agua, lo que lleva a modificar sus condiciones organolépticas, a reducir el oxígeno disuelto, y alterar la estética del paisaje (Estévez, 1988). Lo anterior corresponde a los resultados que pueden esperarse de cualquier florecimiento de cianobacterias; sin embargo, es importante tener en cuenta que se podrían estar liberando cianotoxinas de manera continua, las cuales afectan a las poblaciones de peces y otros organismos acuáticos y constituyen un factor de riesgo para la gente que, por exposición ocupacional o recreacional, entren en contacto con ellas (Roset et al., 2001).

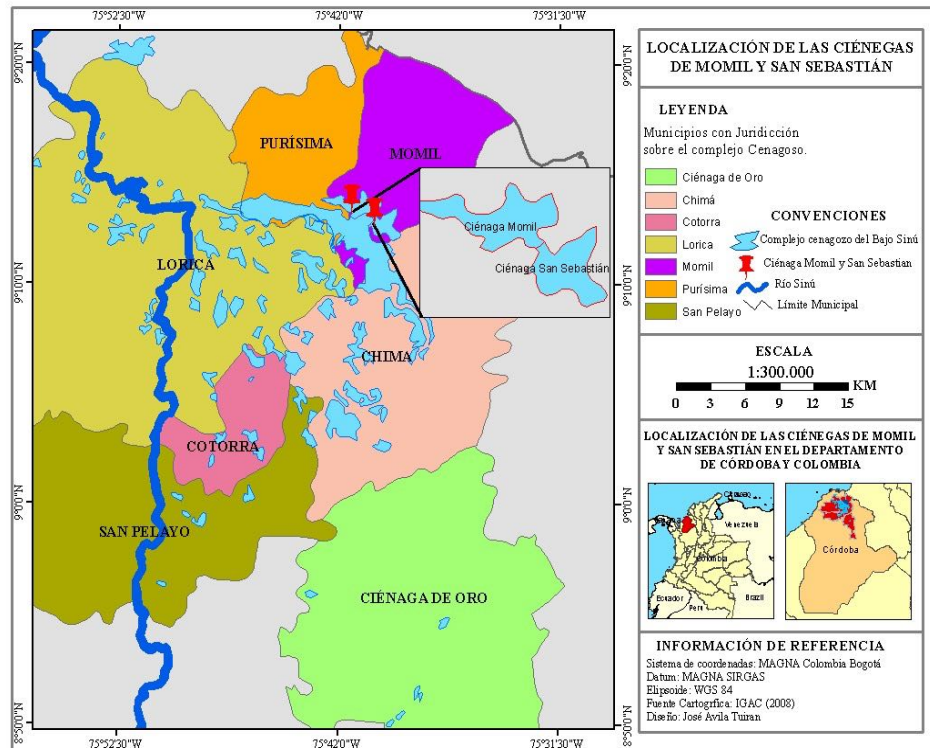


Figura 17. Estaciones de muestreo en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, Córdoba-Colombia. Los puntos de muestreo están representados con el indicador de color rojo.



Figura 18 Panorámica de la Ciénaga de San Sebastián Córdoba (Foto JE. Barrios, 2017).



Figura 19 Panorámica de la Ciénaga de Momil, Córdoba (Original, 2017).

4.2 FASE DE CAMPO.

4.2.1 Establecimiento de las estaciones de muestreo.

Las estaciones de muestreo fueron definidas por el estado de eutroficación presente en la zona, estudios previos en estas zonas, la facilidad de acceso y la presencia de pescadores en cada sitio de estudio.

Se procedió al registro de parámetros físico/químicos *in situ*: temperatura (t°C), transparencia (cm) con disco Secchi. La conductividad ($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$), el oxígeno disuelto OD ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y pH (unidades de pH), fueron medidos con una sonda multiparámetros (HACH: Referencia HQd/IntelliCAL™ Rugged Field Kit).

4.2.2 Definición del tamaño de la muestra.

Se recolectaron 113 peces vivos de *P. magdalenae*, con peso de captura de 200 ± 5 gramos, tamaño de muestra que fue calculado usando la fórmula (Bhujel, 2008; Blas et al., 2008):

$$n = 3,8416 * \left(\frac{\sigma}{E}\right)^2$$

Dónde:

n: tamaño de la muestra necesario

σ : desviación estándar estimada de la media de la variable

E: error aceptado o precisión deseada

Para determinar la proporción de los peces con lesiones asociadas con cianotoxinas se utilizó la expresión de la desviación estándar estimada (sigma σ), que deriva de la fórmula anterior, así:

$$n = 3,8416 * p * \frac{(1 - p)}{E^2}$$

Teniendo en cuenta estudios previos (Herazo et al, 2016; Guzmán et al., 2017), se asumió 90 a 95% la proporción o prevalencia esperada (p) de peces con toxina positiva.

4.2.3 Obtención de la muestra en campo.

Para la determinación de las lesiones en branquias e hígado asociadas a MC, 113 peces fueron seleccionados aleatoriamente a lo largo de 6 meses; en cada muestreo se procedió a la eutanasia por choque térmico, con el propósito de evitar el sufrimiento y preservar los órganos de interés (hígado y branquias); se registraron los signos clínicos macroscópicos externos. Posteriormente se hizo el registro biométrico utilizando una balanza marca Ohaus® y un lctiómetro, una vez registradas las características morfométricas, se extrajeron los tejidos branquial y hepático, para su posterior fijación en formalina (formaldehído tamponado al 10%) en una relación 1:10 por 72 horas y luego transferidos a etanol al 70%.

Finalizado el proceso de extracción de órganos, los peces fueron descartados siguiendo el protocolo del Manual Básico de Sanidad Piscícola – y el capítulo de las consideraciones de higiene (FAO, 2011).

4.3 FASE DE LABORATORIO.

La primera parte del procesamiento de las muestras histológicas, se llevó a cabo en el Laboratorio de Sanidad Acuícola y Calidad de Agua de la Universidad de Córdoba. Se procedió de manera manual a la inclusión en bloques de parafina de primer uso (Mojica (2012), modificado de Vallejo y Newmark (1999), como se esquematiza en la figura 20, embebiendo en un solo bloque el tejido branquial sin material cartilaginoso y tejido hepático por cada individuo.

Proceso histológico:

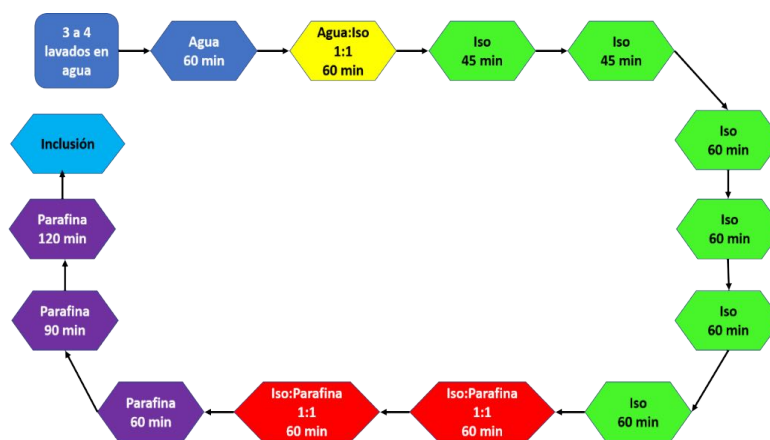


Figura 20 Protocolo de histología libre de xilol, estandarizado en el laboratorio de Sanidad Acuicola y Calidad de Agua adaptado de Mojica, 2012; Vallejo y Newmark, 1999.

Las placas histológicas fueron procesadas en el Laboratorio de Patología Animal del ICA, sede Bogotá, con un grosor de 4 μm y coloración estándar con hematoxilina & eosina (H&E).

Estudio de los cortes histológicos.

Se observaron 113 tejidos de branquias y 113 tejidos de hígado de los individuos examinados (placa por individuo), cada placa fue examinada en 10X y 40X (100X para casos no muy claros). Posteriormente se realizó un barrido y registro fotográfico de cinco campos visales en 10X y 5 en 40X, se procedió a la identificación de las lesiones y diferenciación entre artefactos y alteración, para minimizar errores en el diagnóstico.

Se caracterizaron las alteraciones tisulares y celulares de dos formas; la primera con grado de severidad (I, II, III y IV) y la segunda como variables dicotómicas presencia (1) /ausencia (0), registrándolas en una base de datos.

Para la cuantificación del grado de severidad, se utilizó un criterio arbitrario semicuantitativo así: se dividió imaginariamente el campo visual (cv) en cuatro cuadrantes y se otorgó una calificación de 0,25, 0,50, 0,75 y 1,0, según la cobertura de la alteración, como se muestra en la figura 21, tabla 5. Se observaron cinco campos visuales en 10X y cinco campos visuales en 40X,

obteniendo un dato promedio en cada uno de los 5 campos en 10X (Vallejo y Neumark, 1999).

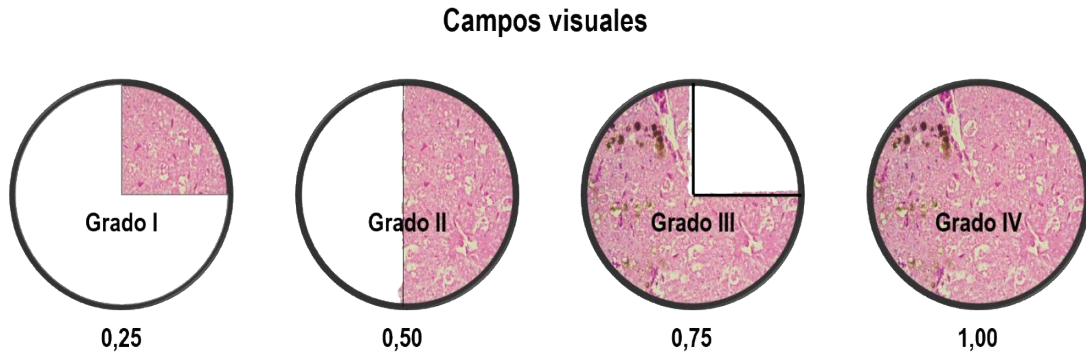


Figura 21 Ilustración de la metodología realizada para la determinación del grado de severidad propuesta por Vallejo y Neumark (1999). Cuadrantes comprometidos en el campo visual.

TABLA 5. Criterios empleados para cuantificar el grado de severidad.

Frecuencia de aparición en 5 campos visuales (%)		
Grado	Cobertura (promedio de cinco campos visuales)	Escala de valoración Severidad
Cero (0)		no se detectan alteraciones celulares y tisulares
Uno (I)	Menos de 25%	Eventual
Dos (II)	25 y 50%	Leve
Tres (III)	50 y 75%	Grave
Cuatro (IV)	mayor del 75%	Severo

4.3.1.1. Determinación de los cambios histológicos asociados a MC's.

Para determinar la presencia de los cambios histológicos en branquias e hígado de *P. magdalenae*, se utilizó el atlas de histopatológicos de peces sanos y publicaciones científicas de referencia. Los órganos branquiales e hígado de ciento trece (113) peces fueron examinadas bajo el microscopio óptico a 10X y confirmadas en 40X o 100X.

Para determinar la correspondencia entre los cambios histológicos observados y los cambios histológicos de las referencias bibliográficas,

asociadas a MC's, se asumió el criterio dicotómico presencia (1) y ausencia (0) (Anexo 1), así:

Índice de correspondencia (IC) de los cambios histológicos asociados a MC's:

$$\begin{aligned} \text{IC (branquias)} &= \frac{\# \text{ de cambios histológicos observados en branquias (B)}}{6 \text{ tipos de cambios histológicos reportados en la literatura}} \\ \text{IC (hígado)} &= \frac{\# \text{ de cambios histológicos observados en hígado (H)}}{8 \text{ tipos de cambios histológicos reportados en la literatura}} \\ \text{IC (órganos diana)} &= \frac{(\# \text{ de cambios histológicos en B}) + (\# \text{ de cambios en H})}{14 \text{ cambios histológicos reportados en la literatura B + H}} \end{aligned}$$

Una vez hallada la correspondencia individual, se procedió a realizar el histograma de frecuencias (n= 113 observaciones), en la población de bocachico del CCBS.

4.4 ANÁLISIS DE DATOS.

Los registros de las variables físicas y químicas obtenidos en campo fueron organizados en una hoja de cálculo y analizados con el software estadístico XLSTAT: v.2019. Se procedió a obtener el resumen de estadística descriptiva (media, mediana, mínimo, máximo, desviación estándar y variancia), prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) y prueba no paramétrica Kruskal-Wallis. Las diferencias entre cada una de las variables estudiadas fueron consideradas significativas a partir de un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

El estado trófico de las ciénagas estudiadas se obtuvo, mediante la fórmula del índice del estado trófico de Carlson (1977) o TSI (Trophic state Index), modificada por Aizaki et al (1981) utilizando el promedio de las transparencias registradas con el disco Secchi (DS).

$$TSI(\text{Disco Secchi}) = 10 * \left(2,46 + \frac{3,76 - 1,57 \ln DS^*}{\ln 2,5} \right)$$

La correlación entre las variables independientes (físicas y químicas) y las variables dependientes (alteraciones histológicas observadas), se realizó

mediante estadística no paramétrica aplicando el análisis de componentes principales (ACP), con el paquete estadístico XLSTAT v. 2019.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LOS PECES.

Las principales características biométricas de los peces examinados se presentan en la Tabla 6. El promedio de la talla y peso de las muestras recolectadas estuvieron entre $24,59 \pm 2,38$ cm y $230,81 \pm 72,27$ g respectivamente, con un factor de condición (FC) promedio de $0,0140 \pm 0,0107$, evidenciando diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las estaciones de Momil y San Sebastián (Anexo 1). El máximo valor del FC se registró para Momil con un promedio de $0,0249 \pm 0,0019$ y San Sebastián con FC de $0,0032 \pm 0,0004$.

TABLA 6. Características biométricas y físicas de los peces en este estudio.

2017-2018		San Sebastián			Momil			General		
		Talla (cm)	Peso (g)	Prom FC	Talla (cm)	Peso (g)	Prom FC	Talla (cm)	Peso (g)	Prom FC
Septiembre	Promedio	27	307,8	0,0034	28,2	353,7	0,0254	27,6	330,8	0,014
	Ds	1,175	34,418	0,0003	1,02	42,253	0,0020	1,2	44,3	0,011
Octubre	Promedio	27,1	295,4	0,0032	26,8	298	0,0248	26,9	296,7	0,0140
	Ds	0,801	29,774	0,0002	0,911	13,96	0,0018	0,85	22,7	0,0111
Noviembre	Promedio	24,34	201,5	0,0032	22,2	172,7	0,0246	23,2	187,1	0,0139
	Ds	0,753	20,738	0,0002	0,841	23,547	0,0012	1,4	26,2	0,0002
Enero	Promedio	21,1	176,7	0,0100	20	157,2	0,0268	22,9615	187,6923	0,0130
	Ds	7,578	68,282	0,021	7,608	68,832	0,009	1,5224	32,4587	0,0107
Febrero	Promedio	24	215	0,0035	23,5	208,8	0,0250	23,7	211,9	0,0143
	Ds	1,693	53,085	0,0002	1,389	39,194	0,0019	1,5	45,5	0,0111
Marzo	Promedio	23,2	140	0,0026	21,8	171,2	0,0255	22,5	155,6	0,0140
	Ds	0,537	14,016	0,0027	1,342	26,012	0,0016	1,2	25,9	0,0118
Total general	Promedio	24,88	227,35	0,0032	24,29	234,32	0,0249	24,59	230,81	0,0140
	Ds	1,99	67,849	0,0004	2,726	78,029	0,0019	2,38	72,27	0,0107

Las alteraciones morfológicas macroscópicas externas e internas detectadas en los peces, se señalan en la Tabla 7.

TABLA 7. Alteraciones macroscópicas en las muestras de *P. magdalenae* de Momil y San Sebastián entre septiembre 2017 y marzo del 2018.

Características morfológicas macroscópicas	Estación	Muestreos	Estación	Muestreos
	Momil (n=56)	(m=6)	San Sebastián (n=57)	(m=6)
Oscurecimiento anormal de la superficie corporal	29%	6/6	79%	6/6
Escamas deterioradas	29%	3/6	74%	6/6
Enrojecimiento y prominencia de ano	0%	0/6	11%	2/6
Branquias laceradas y ennegrecidas	9%	3/6	2%	1/6
Branquias con exceso de m.o	21%	4/6	28%	6/6
Hemorragia en branquias	14%	3/6	74%	5/6
Hígado hipertrofiado	36%	4/6	53%	5/6
Hígado pálido	4%	1/6	14%	1/6
Hígado ennegrecido y con manchas multifocales	18%	3/6	53%	3/6

Las alteraciones macroscópicas internas observadas, señalan en branquias un cuadro hemorrágico (figura 22) en un 74% de la población estudiada para la estación de San Sebastián, siendo este el valor más alto entre estaciones de muestreo.



Figura 22. Cuadro hemorrágico en branquias de bocachico en el CCBS, durante septiembre del 2017 y marzo del 2018.

En el caso del hígado, se observó hipertrofia hepática entre un 36% y 53%, para San Sebastián y Momil, respectivamente; en la estación de San Sebastián se presentaron hígados oscurecidos, con manchas multifocales en el 53% de las muestras analizadas (figura 23).

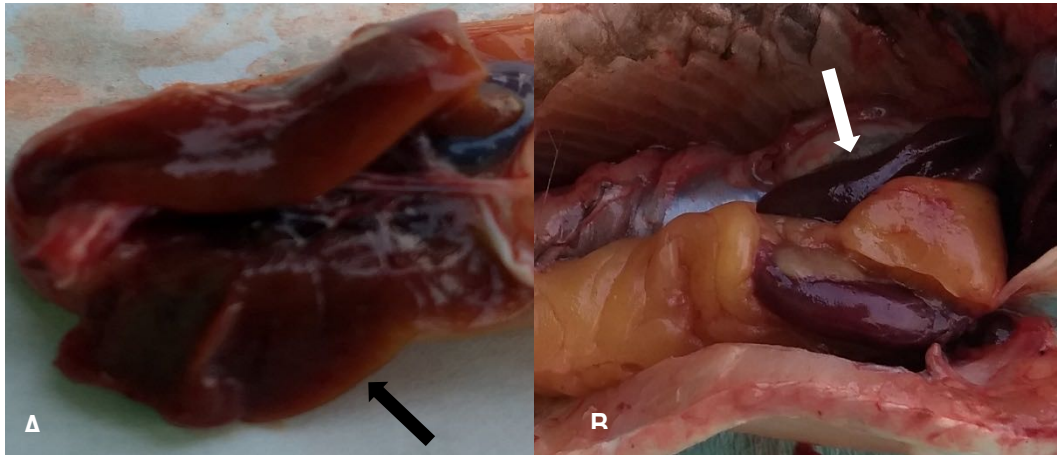


Figura 23. Alteraciones macroscópicas en hígado de bocachico *P. magdalenae* en el CCBS (2017-2018). A) Hígado hipertrofiado; B) Órgano hepático oscurecido (Foto de DS. Herazo).

5.2 ALTERACIONES HISTOLÓGICAS DE BRANQUIAS E HÍGADO DE LOS PECES.

5.2.1 Lesiones específicas para toxicidad por MC en branquias

- Atrofia de las lamelas:

Se observó el acortamiento de las lamelas en un 57% de las muestras analizadas, como se observa en la figura 24A.

Perdida de función lamelar:

Se observó pérdida total de las laminillas branquiales, observa en la figura 24B. El 49% de las muestras estudiadas corresponden a esta lesión.

- Hiperemia:

Se observó un gran volumen longitudinal de células sanguíneas, como se observa en la figura 24C, Esta lesión en general se encontró en el 44% de las muestras estudiadas.

- Fusión de lamelas:

Se observó congestión lamelar y adhesión parcial de las lamelas adyacentes, como se observa en la figura 24D, en los tejidos estudiados se encontraron

fusiones parciales, medias y totales representando un 39% de las muestras analizadas.

- Degeneración de lamela:

Se observó congestión, alargamiento, pérdida parcial de las laminillas branquiales y desprendimiento del epitelio (figura 24E). Esta lesión representa un 34% de los tejidos analizados.

- Telangiectasia o aneurisma:

Esta lesión se presentó en un 33% de las muestras estudiadas. En los tejidos se observó la dilatación y acumulación de eritrocitos en la parte apical de los capilares (figura 24F).

5.2.2 Distribución de frecuencias y grado de severidad en tejido branquial.

Como se observa en la distribución de frecuencias por lesión y por grado de severidad en branquias, (figura 25), hasta el 57% de las muestras de branquias presentaron algún tipo de lesión histológica.

Las lesiones inespecíficas más frecuentemente observadas fueron hiperplasia de células del filamento (55%), necrosis (39%), pérdida del citoplasma (30%).

En relación a las alteraciones histopatológicas asociadas con MC: la atrofia lamelar, pérdida de función lamelar, hiperemia, fusión de lamelas, degeneración en lamelas y telangiectasia, se presentaron entre el 33 y el 57% de los tejidos analizados. Entre los hallazgos graves y severos la frecuencia o prevalencia mínima fue del 13% y la máxima de 34%, como se observó en hiperemia.

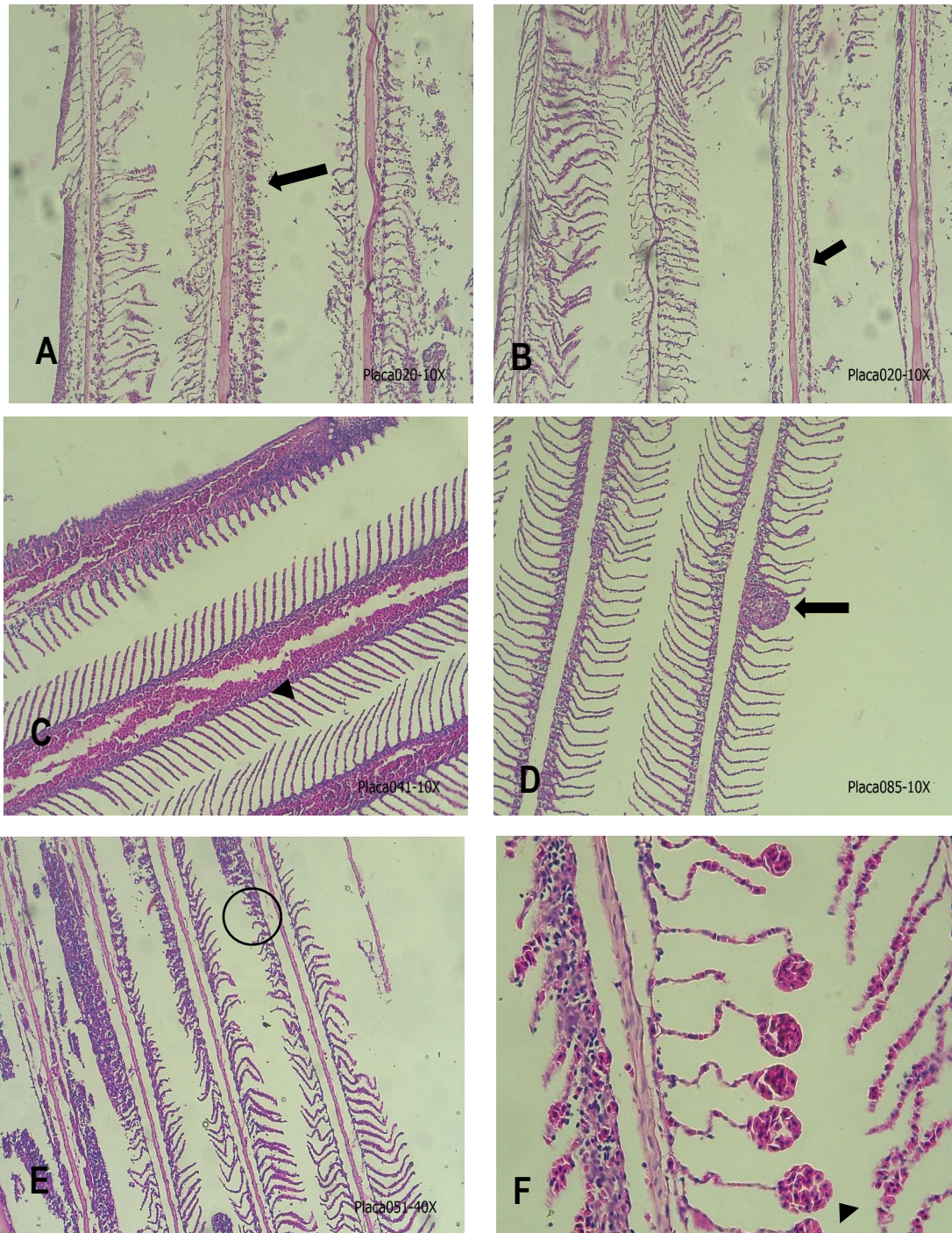


Figura 24. Lesiones de las branquias asociadas a MC en *P. magdalenae* del CCBS entre 2017 y 2018 (H&E; 40X; Bar: 50 μ m). A) Atrofia lamelar (flechas); B) Pérdida de función lamelar (flecha); C) Hiperemia ; D) Fusión de lamelas (flecha); E) Degeneración de lamelas (circulo); F) Telangiectasia o aneurisma ▲.

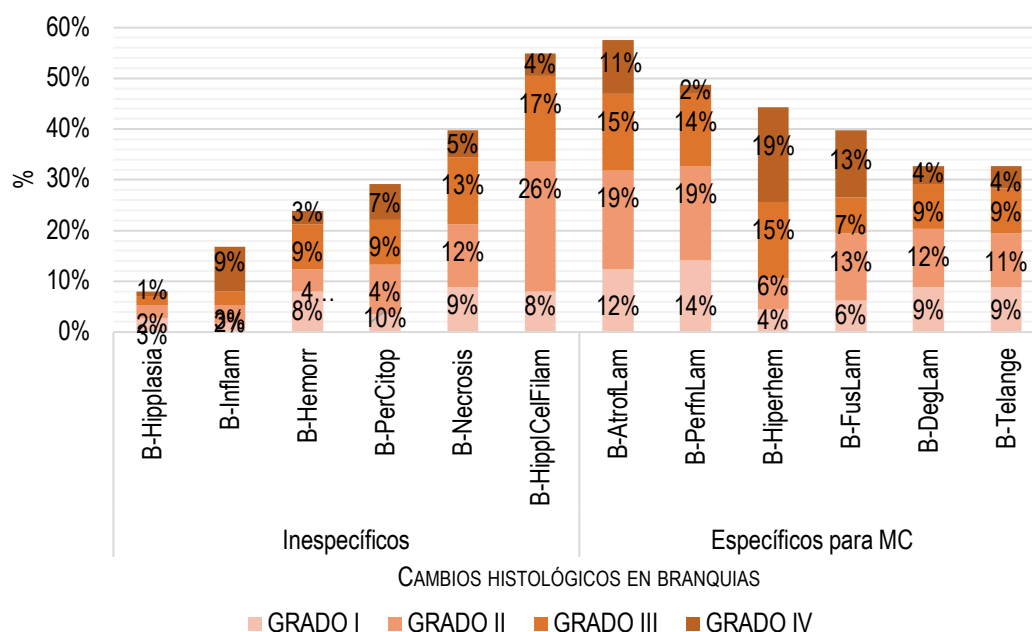


Figura 25. Frecuencia y grado de severidad de los cambios histológicos observados en branquias de bocachico *P. magdaleneae* en el CCBS durante septiembre de 2017 y marzo de 2018.

5.2.3 Lesiones específicas para toxicidad por MC en hígado

- Degeneración plumosa:

Se presentó acumulación de bilis alrededor de la vena porta; como se observa en la figura 26A. En el 53% de los hallazgos encontrados se pudo evidenciar significativamente esta lesión.

- Necrosis

Células en cariorrexis, picnosis y pérdida de la citoarquitectura del hígado en el 38 % de las muestras observadas.

- Vacuolización:

Se observaron vacuolas macrovesiculares en todo el tejido (figura 26B). El 30% del total de muestras estudiadas corresponde a esta lesión.

- Hepatocitos binucleados:

Se observaron hepatocitos en citocinesis o división celular, pudiendo identificar hepatocitos binucleados (figura 26C). Esta lesión se presentó en un 29% de las muestras analizadas.

- Hemorragia:

Se observó una alta concentración de células sanguíneas de forma parcial, como se muestra en la figura 26D. El 26% de las muestras estudiadas corresponden a esta alteración.

- Dilatación de sinusoides:

Esta lesión se observó en el 23% de los tejidos analizados, se caracteriza por la dilatación o el ensanchamiento de los canales sinusoidales, como se observa en la figura 26E.

- Turgencia:

Se observó el abultamiento o hinchamiento parcial de los hepatocitos (figura 26F). Esta patología representa el 18% de los hallazgos encontrados en los tejidos analizados.

Como se observa en la Figura 27, la distribución de frecuencias por lesión y por grado de severidad en el hígado, el 53% del total de las muestras estudiadas en hígado presentaron degeneración plumosa, de las cuales el 20% y el 22% corresponden a grado III (grave) y IV (severo) respectivamente.

Hasta el 53% de los tejidos hepáticos observados, presentaron algún tipo de lesión histológica. La figura 27 muestra la distribución de frecuencias por lesión y frecuencia acumulada por grado de severidad.

Las lesiones inespecíficas más frecuentemente observadas fueron núcleos prominentes (53%), Hipertrofia (49%) cariorrexis (29%), infiltración (25%), y hepatocitos anucleado fue la lesión con hallazgos por debajo del 5%.

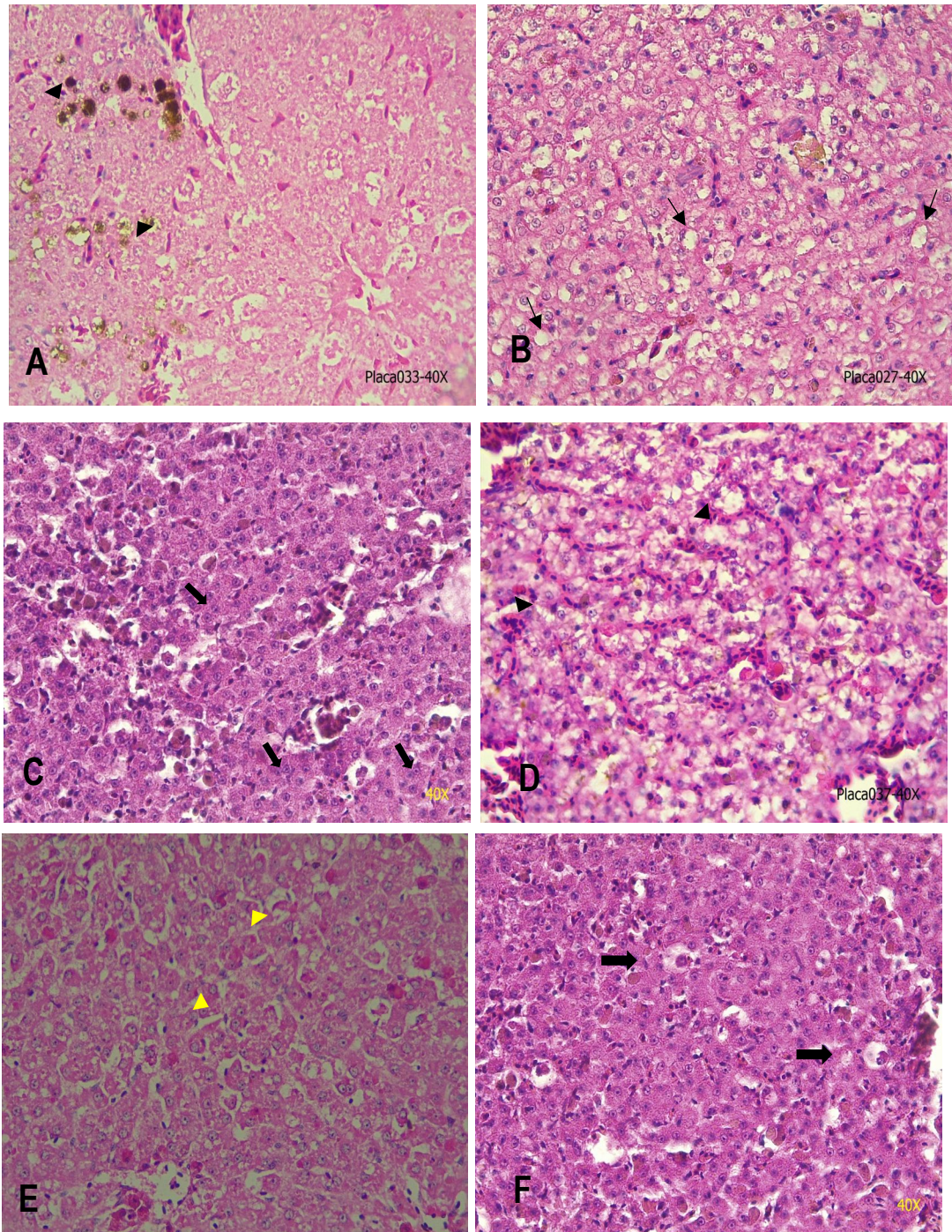


Figura 26. Lesiones del hígado asociadas a MC en *P. magdalenae* del CCBS entre 2017 y 2018 (H&E; 40X; Bar: 50 μ m). A) Degeneración plumosa ; B) Vacuolización (flechas); C) Hepatocitos binucleados (flechas); D); Hemorragia ;E) Dilatación de sinusoides \blacktriangle ; F) Turgencia (flechas).

5.2.4 Distribución de frecuencias y grado de severidad en tejido hepático.

En relación a las alteraciones histopatológicas asociadas con MC: degeneración plumosa, necrosis, vacuolización, Hepatocito binucleado, hemorragias, dilatación de sinusoides y turgencia, se presentaron entre el 53% y el 18% de los tejidos analizados. Entre los hallazgos graves (III) y severos (IV), la prevalencia mínima fue del 13% y la máxima de 44%, como se observó en degeneración plumosa.

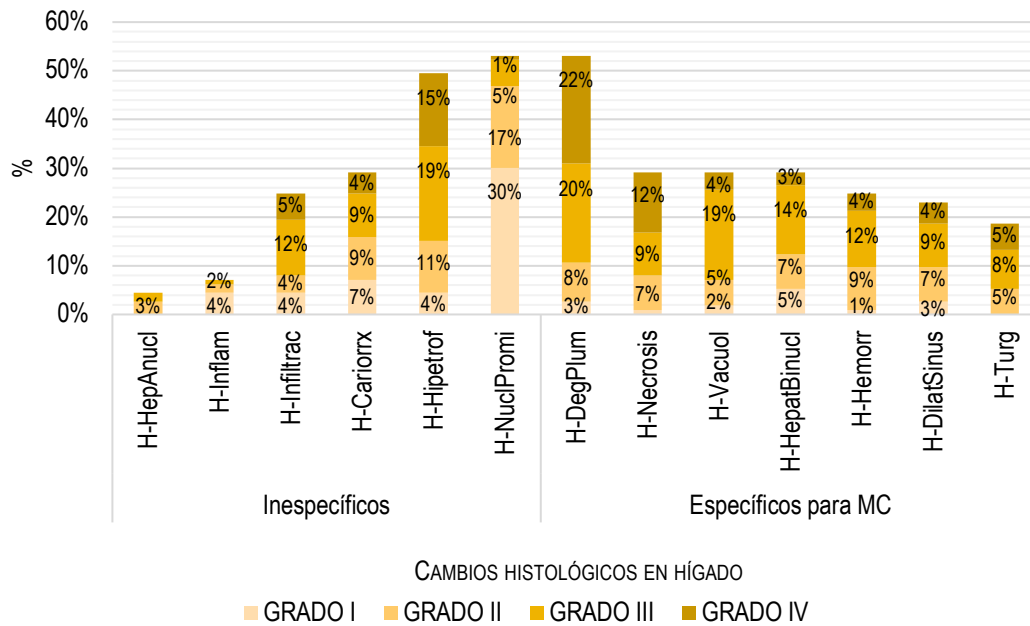


Figura 27. Frecuencia y grado de severidad de los cambios histológicos observados en hígado de bocachico *P. magdalenae* en el CCBS durante septiembre de 2017 y marzo de 2018.

5.2.5 Correspondencia (coincidencias) entre los hallazgos y las lesiones asociadas a MC's, reportadas en la literatura.

El Anexo 2 presenta la matriz de datos de hallazgos histológicos de interés, resumido en la figura 28, representando la distribución de frecuencias de los hallazgos histológicos asociados a la exposición por MC's, en las 113 observaciones de branquias e hígado y su índice de correspondencia con las lesiones atribuibles a MC, referenciados por Prieto et al., 2008; Andrinolo et al., 2008; Gutierrez et al., 2012; Guianuzzi et al., 2017.

En las branquias, el 24% de las muestras presentaron índice de correspondencia de 0,2; es decir, sola 1 coincidencia de 6 lesiones reportadas; por su parte, 36% de las muestras presentaron entre 1 y 2 coincidencias con las lesiones de referencia y 64% de las observaciones coincidieron con 2 o mas lesiones de referencia para MC's

En resumen, el 85% de las muestras examinadas presentaron al menos 4 coincidencia de las 14 alteraciones histológicas reportadas en la literatura (fig. 28C).

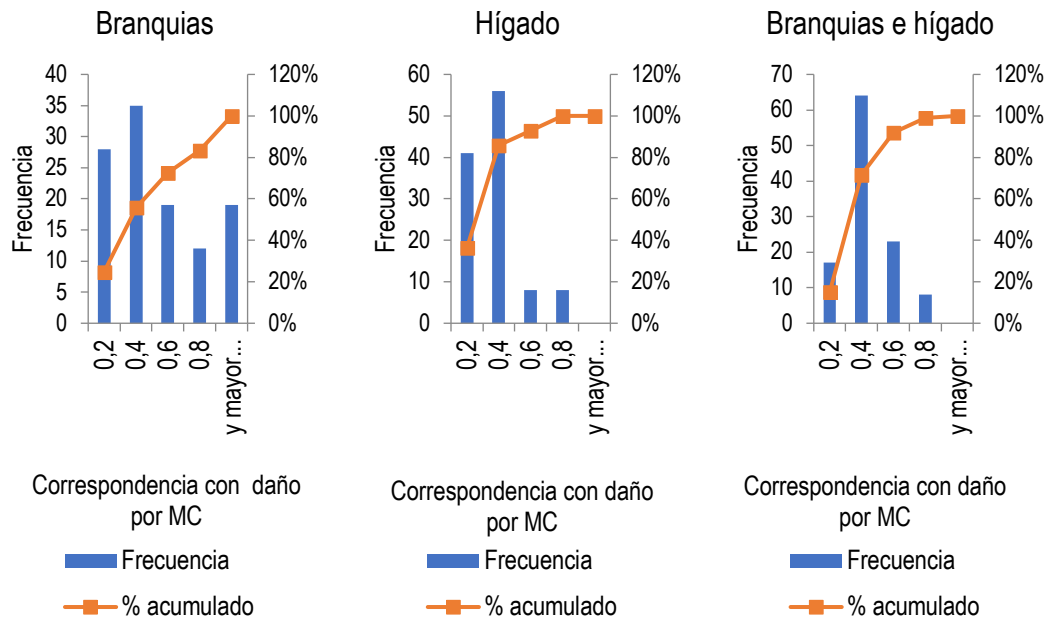


Figura 28. Índice de correspondencia (IC) entre los hallazgos en *P. magdalenae* en el CCBS entre septiembre de 2017 y marzo de 2018, y las lesiones histológicas de branquias e hígado en peces expuestos a MC's, reportados en la literatura.

5.3 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN EL MEDIO ACUÁTICO DEL CCBS, DURANTE EL ESTUDIO.

El Anexo 3 presenta los registros de las variables ambientales físicas y químicas.

5.3.1 Temperatura.

Para el presente estudio la temperatura registro valores promedios de $29,7 \pm 0,938$ y $31,2 \pm 0,714$ para San Sebastián (SSEB) y Momil respectivamente, evidenciando diferencias significativas ($p < 0,05$) entre estaciones de muestreo. Los rangos de menor valor se presentaron para el mes de noviembre tanto para SSEB ($28,2 \text{ }^\circ\text{C}$), como para Momil ($30,4^\circ\text{C}$), y los de mayor valor se registraron para SSEB en el mes de marzo ($30,8^\circ\text{C}$), y Momil ($32,1^\circ\text{C}$) en el mes de enero (figura 29A).

5.3.2 Transparencia.

La transparencia del agua está dada por la lectura de los valores incidencia lumínica obtenidos con el disco secchi, no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre estaciones, para SSEB esta variable se presentó con un valor promedio de $64,17 \pm 57,39$, registrándose rangos de menor valor en los meses de febrero (20 cm) y marzo (15) y el mayor valor en el mes de octubre (150 cm). En Momil se obtuvo una transparencia promedio de $54,67 \pm 30,40$ presentando los rangos de menor valor en los meses de febrero y marzo con valores de 25 y 13 cm respectivamente, y el valor más alto en el mes de octubre (90 cm), (figuro 29B).

TSI de las ciénagas de San Sebastián y Momil

Se reemplaza el DS por el valor promedio en metros obtenido en las estaciones de estudio, San Sebastián (1) y Momil (2), así:

$$\begin{aligned} TSI(\text{Disco Secchi}) &= 10 * \left(2,46 + \frac{3,76 - 1,57 \ln(0,6417)^*}{\ln 2,5} \right) \\ TSI(\text{Disco Secchi}) &= 73,24 \\ TSI(\text{Disco Secchi}) &= 10 * \left(2,46 + \frac{3,76 - 1,57 \ln(0,5467)^*}{\ln 2,5} \right) \\ TSI(\text{Disco Secchi}) &= 75,98 \end{aligned}$$

5.3.3 Conductividad ($\mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$)

En la Ciénaga de SSEB los valores de conductividad promedio obtenidos fueron $377,333 \pm 177,662$, mientras que en la ciénaga de Momil los valores fueron $351,333 \pm 93,820$ (figura 29C), sin presentar diferencias significativas ($p < 0,05$) entre estaciones. En la ciénaga SSEB los rangos de mayor valor de conductividad se presentaron para los meses de febrero y marzo (572 y $582 \mu\text{s}/\text{cm}$) respectivamente, mientras que el de menor valor se presentó en el mes de septiembre con un valor de $183 \mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$. En la ciénaga de Momil se registró un mayor valor para los meses de febrero y marzo (431 y $485 \mu\text{s}/\text{cm}$) respectivamente, mientras que para el mes de septiembre se obtuvo el menor valor $251 \mu\text{s}/\text{cm}$.

5.3.4 Oxígeno disuelto ($\text{mg}.\text{L}^{-1}$).

En la estación de SSEB se presentaron valores promedio de oxígeno de $2,7 \pm 3,08 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ y para Momil un promedio de $6,25 \pm 1,72$ sin diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las estaciones, obteniendo el mayor valor para la estación de SSEB en el mes de marzo ($8,1 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$) y el menor para el mes de octubre con un valor de $0,27 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$. Para Momil el mayor valor fue en el mes marzo con valor de $7,96 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$, mientras que el menor valor se registró en el mes de enero $2,93 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ (figura 29D).

5.3.5 pH.

La ciénaga de SSEB presentó valores promedio de pH $6,98 \pm 0,56$ y en Momil valores de $7,22 \pm 0,35$ sin diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las estaciones de muestreo. Encontrándose en SSEB el menor valor de este parámetro en el mes de enero ($6,39$) y el mayor en el mes de marzo ($7,80$), mientras que para Momil los meses donde se registró el mayor valor fue en el mes de febrero ($7,71$) y el menor valor para el mes de octubre ($6,90$) comportamiento que se puede observar en la figura 29E.

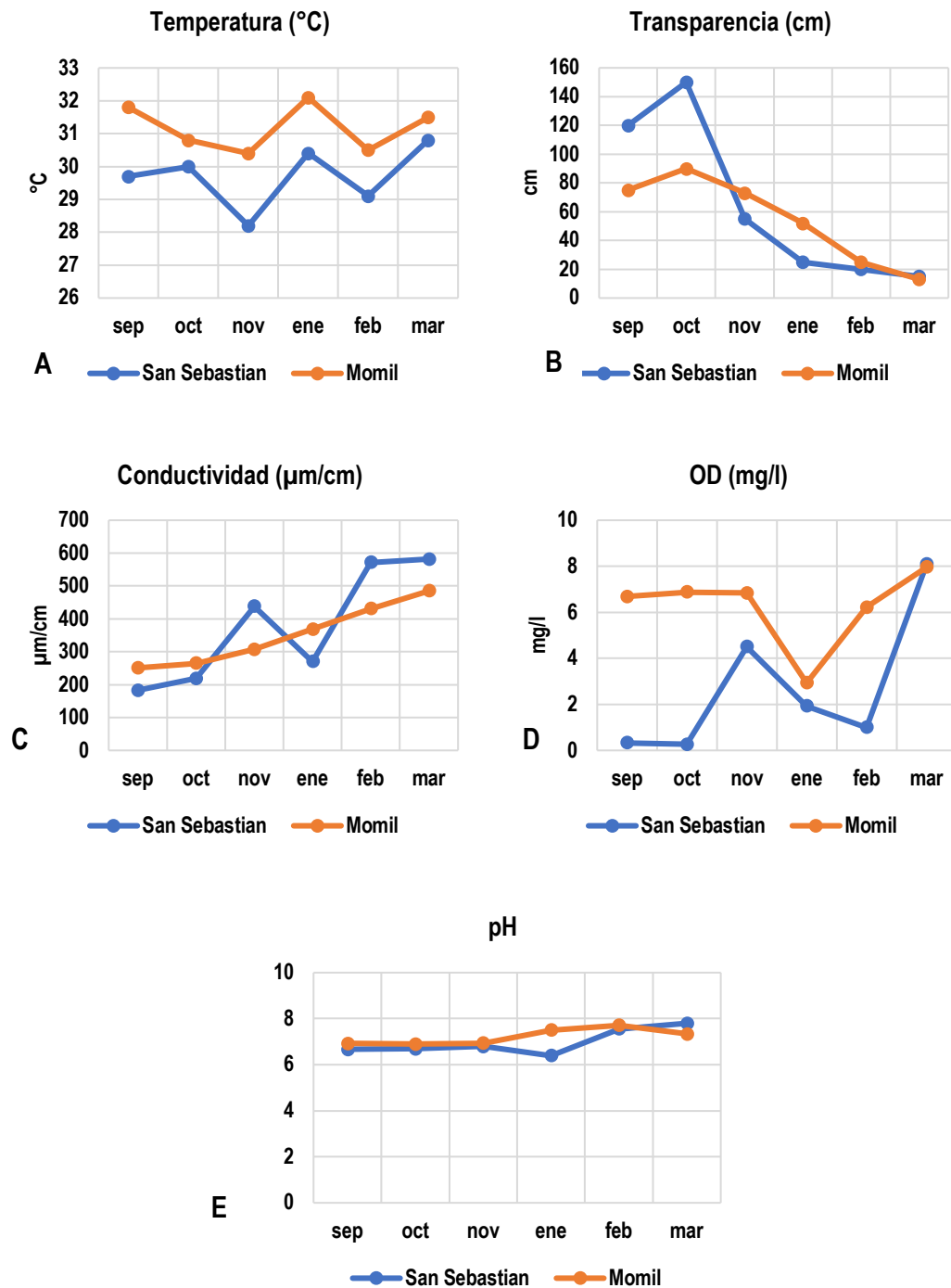


Figura 29. Comportamiento de los parámetros físico/químicos durante los meses de septiembre 2017 a marzo 2018 en el CCBS. A) Temperatura B) Transparencia C) Conductividad D) Oxígeno disuelto E) pH.

5.4 CORRELACION DE LAS VARIABLES FISICO-QUIMICAS DEL AGUA Y LAS ALTERACIONES HISTOLOGICAS.

En la figura 30 se representa el ACP, en el cual, la transparencia (cm), conductividad ($\mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$) y pH (F1 horizontal), aportaron al modelo explicativo (53,68 %), de manera positiva (coordenada derecha) o inversamente (coordenada izquierda), para los hallazgos histológicos, asociables a MC's: B-AtrofLam., B-PerfnLam., B-Hiperhem., B-Telange., H-DegPlum., H-Necrosis, H-HepatBinucl., H-Hemorr., H-DilatSinus. y H-Turg.. En la componente F2, con aporte del 30,36% como variables explicativas el OD ($\text{mg}.\text{L}^{-1}$) y la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), con H-Vacuol., H-HepatBinucl., H-Hemorr. y de nuevo H-DilatSinus. El análisis de correlación se presenta en el Anexo 5.3 .

Este resultado tiene particular significado, porque confirma que las variables ambientales (transparencia, la conductividad y el pH) influyen directa o indirectamente sobre los organismos vivos, favoreciendo el desarrollo de florecimientos de cianobacterias e incidiendo en los tejidos de barrera (branquias) y de absorción (hígado) (figura 30, Anexo 5.5).

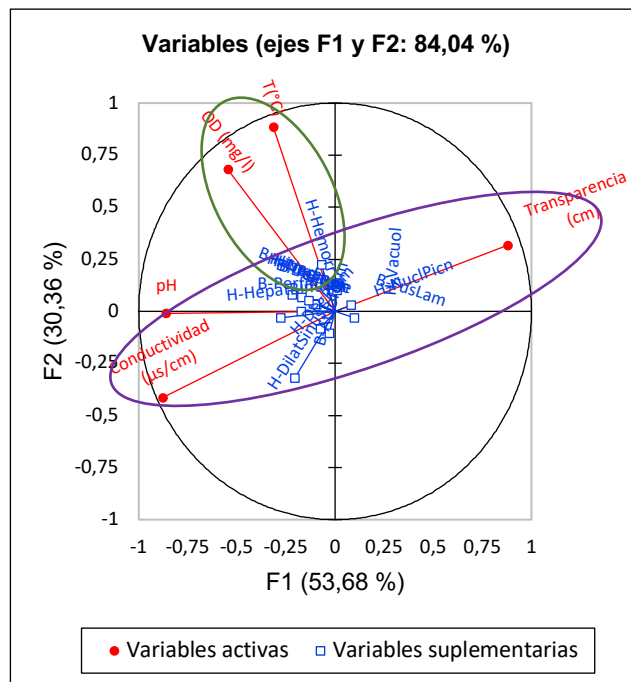


Figura 30. Aporte de las variables independientes físico-químicas (activas), sobre las variables dependientes (suplementarias) o histológicas, en las componentes F1 y F2.

Los resultados de la figura 31 corresponden al aporte del factor distribución espacial, en el modelo (figura 31A).

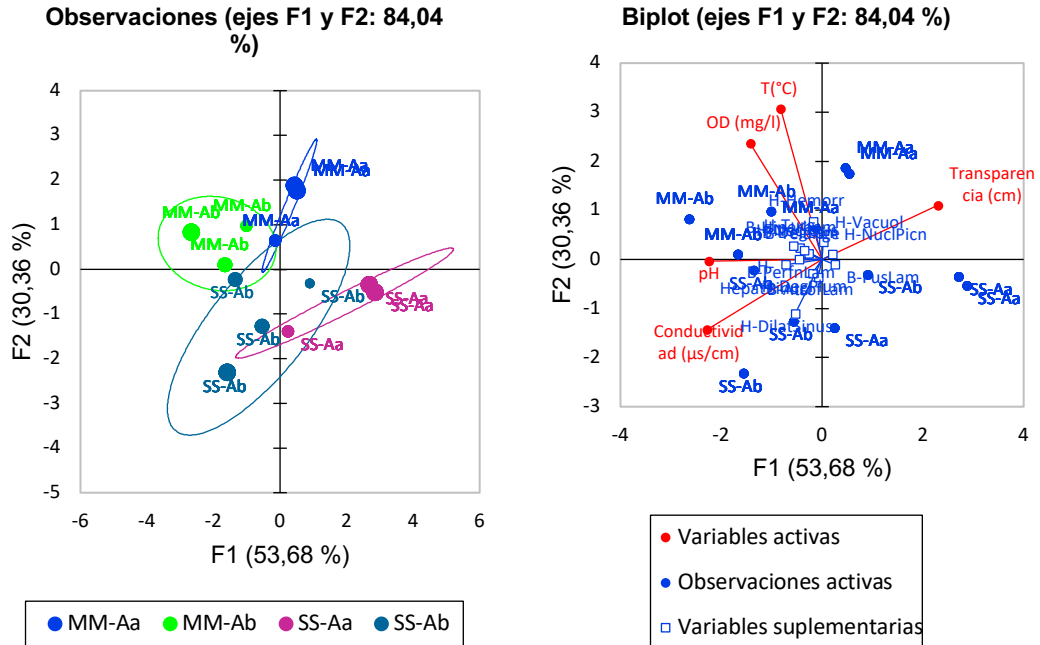


Figura 31. A) Contribución de la distribución espacial (Estaciones MM y SSEB). B) Contribución de las variables físicas y químicas, las observaciones (puntos rojos) y las variables histológicas.

6 DISCUSIÓN

6.1 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y FACTOR DE CONDICIÓN. El factor de condición (FC) de *P. magdalenae* en la zona de estudio estuvo por debajo de los valores reportados por Leyton et al., (2015) para la misma especie (entre 0,73 y 1,21 con un valor promedio de 1.006) en la cuenca del río Cauca. Estos resultados pueden estar asociados a la bioacumulación de MC a la cual estuvieron sometidos los individuos muestreados, teniendo en cuenta que *P. magdalenae* es una especie iliófaga que se alimenta de detritos orgánicos, fitoplancton y células de cianobacterias bénticas que consume directamente del perifiton (Maldonado-Ocampo, 2005; Leyton et al., 2015). Así mismo el factor de condición es un factor que indica el estado nutricional de los peces, siendo los valores más cercanos o iguales a 1 los ideales y valores por debajo indican presión en la población de peces, ya que se encuentran en un ambiente degradado (Leyton et al., 2015).

El deterioro de las escamas fue atribuido a la acción del arte de pesca utilizado en las capturas; al igual que el color oscuro de la piel, asociado a hábitos bénticos que posee la especie en los ecosistemas cenagosos, sin embargo, se consideraron dentro de las observaciones. Según Guiannuzzi et al., (2017), especies acuáticas contaminadas con MC, sean peces, moluscos o bivalvos comparten la característica de carecer de evidencia organoléptica, es decir, no muestran alteraciones en su sabor, olor o color. Así mismo, estos autores explican que las toxinas son termo y acido-estables, por lo que, a través de los procedimientos normales de preparación de los alimentos, no pueden prevenirse intoxicaciones si en los productos crudos estas toxinas están presentes superando determinadas concentraciones críticas.

Los tejidos de peces analizados presentaron lesiones macroscópicas internas, señalando así un cuadro hemorrágico en branquias; en el caso del hígado, se observó hipertrofia hepática, hígado oscurecido, con manchas multifocales; estas alteraciones también fueron reportadas por Guzmán et al., (2017) para

O. niloticus expuestas a MC en el CCBS en donde se observaron branquias con hemorragias, que coinciden con la degeneración tisular de la lamela y acortamiento lamelar. En cuanto a hígado, se observó el órgano ennegrecido y con manchas multifocales.

6.1.1 Alteraciones histológicas en hígado y branquia

6.1.1.1 Alteraciones en branquias

Las branquias de los peces constituyen el órgano blanco, porque forman parte de la primera barrera inmunitaria y las primeras en reaccionar ante condiciones ambientales desfavorables (Poleksic y Mitrovic-Tutundzic, 1994). Este órgano cumple una función vital en los procesos de barrera inmunitaria, respiración, osmoregulación y excreción; su contacto permanente con el medio acuático y gran área de superficie del epitelio secundario son las principales razones de su particular sensibilidad (Poleksic y Mitrovic-Tutundzic, 1994). La lesión del epitelio branquial es una respuesta común observada en peces expuestos, mientras que la magnitud (grado de severidad) del daño depende de la concentración y frecuencia de exposición (Huancaré, 2014).

En esta investigación el 57% de las muestras analizadas presentaron algún tipo de alteración microscópica, de las cuales 28,5% corresponde a lesiones específicas para la toxina en branquia (Prieto et al., 2008; Andriolo et al., 2008; Gutierrez et al., 2012; Herazo et al., 2016; Guiannuzzi et al., 2017 y Guzmán et al., 2017).

La **atrofia de las lamelas** se presentó en 57%; representó uno de los casos más severos, junto a la **perdida de función lamelar** (49 %), vista como un acortamiento de la misma (figura 26A). Guzmán et al., (2017) reportaron esta lesión en 88 % siendo uno de los casos más severos en *Tilapia nilótica* proveniente del mismo cuerpo de agua (CCBS). Según Rajeshkumar y Munuswamy (2011), si la reparación del epitelio no se da en los tiempos estimados y los factores o agentes causales actúan sobre las células

progenitoras, esta condición implica riesgos sobre la funcionalidad de la branquia.

La presencia de **hiperemia** se reportó en 44% de las muestras analizadas, probablemente como consecuencia de la ruptura del cartílago, donde los glóbulos rojos se trasvasan del capilar, como lo explican Malbrouck y Kestemon (2006), Prieto et al. (2008) en estudios de campo y laboratorio que demostraron diferentes alteraciones histopatológicas generadas por exposición a MC (reportaron hiperemia en branquia de Tilapia (*O. niloticus*), mediante la exposición subcrónica de MC-LR procedentes de floraciones naturales de cianobacterias, administrada conjuntamente con la comida del pez. Así mismo, Puerto et al. (2010) demostraron este mismo daño, mediante la administración oral de una dosis única de 120 µg de MC-LR. Por su parte, Gutierrez et al., (2012) reportaron esta misma lesión cuando sometieron a ejemplares de Tilapia (*O. niloticus*) a una cepa pura de Cylindrospermopsina (200 mg/Kg de pez) mediante dos vías, intraperitoneal (i.p) y ruta oral (sonda).

El 39% de las muestras analizadas presentaron **fusión de lamelas** y de éstas el 20% fue entre grave y severo (III y IV). Guzmán et al., (2017) argumentaron que la pérdida de la estructura branquial se caracteriza por la fusión de las lamelas branquiales, atribuyendo este hecho a un mecanismo de defensa empleado por los organismos vivos, entre estos los peces ante la presencia de cualquier sustancia o agente extraño, disminuyendo el área superficial para la respiración y así reducir la aparición de receptores disponibles para patógenos o toxinas. Según Huancaré (2014), como consecuencia de lo anterior, el aumento de la distancia entre el agua y la sangre debido a la fusión del epitelio de la lamela, reduce el consumo de oxígeno e interrumpe la función osmoreguladora de los organismos acuáticos, provocando una disrupción de la regulación iónica en grado variable. Resultados similares han sido descritos por (Carbis et al., 1996; Zhao et al., 2006; Prieto et al., 2008 y Drobac et al., 2016;), quienes realizando bioensayos de toxicidad en diversas especies de

peces (Salmónidos, Cyprinidos, Cichlidae), mediante la administración de extractos liofilizados de MC por diferentes vías de exposición (alimentación a través de sonda, por inmersión o administración i.p, y por vía aorta dorsal), encontraron alteraciones severas a nivel histológico en diferentes órganos como hígado, bazo, riñón, corazón, intestino y branquia.

La **degeneración de lamelas** se reportó en 34% de las muestras observadas y de éstas, 13% se presentaron entre grave y severo (III y IV). Eler et al., (2009), reportaron esta lesión en *Brycon cephalus* mediante la administración intraperitoneal (i.p) de extractos algales liofilizados de MC y afirmaron que esta lesión es el resultado del primer mecanismo de defensa contra cualquier tipo de peligro o agente extraño que quiera ingresar al organismo.

La **telangiectasia** o aneurisma se presentó en 33% de las muestras analizadas y 13% de los casos entre grave y severo. Este resultado concuerda con los reportados por Carbis et al., (1996) y Drobac et al., (2016), quienes en estudios *in vitro* e *in situ* en carpa común (*Cyprinus carpio*) provenientes de estanques que contenían MC, describieron síntomas como telangiectasia, hiperplasia y fusión de lamelas. Sin embargo, esta condición se ha asociado también al deterioro de la calidad del agua, cuando se alteran los parámetros físico-químicos. Posiblemente la presencia y acumulación de compuestos xenobióticos (MC) o agentes contaminantes presentes en el CCBS, podrían estar influyendo en la aparición de este tipo de lesiones (Ferguson, 2006; Campagna et al., 2008; Herazo et al., 2016; Guzmán et al., 2017).

6.1.1.2 Alteraciones en hígado

El hígado de los peces como en los mamíferos tiene un importante rol en el mantenimiento de la homeostasis metabólica del organismo que incluye el procesamiento de compuestos vitales. El hígado interviene en la detoxificación, la síntesis de compuestos y factores indispensables. Por ello, el daño producido por compuestos xenobióticos, pueden afectar seriamente

la funcionalidad vital de este órgano y producir alteraciones a nivel histológico (Ferguson, 2006; Huancaré, 2014).

La degeneración plumosa se presentó como acumulación de bilis alrededor de la vena porta y fue encontrada en 53% de los casos revisados en esta investigación, siendo éste el más severo. Zurawell et al. (2005), argumentando que este daño puede asociarse a una obstrucción extrahepática o a un disturbio en el flujo normal de bilis; a esta condición se le conoce como colestasis hepática. Guzmán et al. (2017) reportaron esta lesión en 95% de las muestras analizadas de tilapia negra obtenidas en los mismos puntos de muestreo en el CCBS.

La **necrosis** representó el 28% de los casos reportados para esta investigación, siendo uno de los casos más frecuentes de las lesiones asociadas a la intoxicación por MC, coincidiendo con Guzmán et al. (2017). Esta alteración se considera como daño irreversible asociado con la exposición crónica a contaminantes y/o tóxicos (Bernet et al., 1999). En los peces, la necrosis puede ser ocasionada por una variedad de agentes etiológicos, ocasionando estrés oxidativo que genera especies reactivas de oxígeno (ROS). Los resultados aquí expuestos, concuerdan con los reportados por Andrinolo et al. (2008) y Guiannuzzi et al. (2017) en ratones, Carmichael (1992) y Prieto et al. (2008) en peces, quienes realizando estudios *in situ* e *in vitro* en diferentes especies sometidos a MC, produciendo hemorragias, desorganización de la arquitectura, necrosis e infiltraciones en tejido hepático (Tabla 3).

La **vacuolización** se presentó en 30% de los tejidos analizados, **hepatocitos binucleados** (29%) y la **dilatación de sinusoides** se observó en el 23% de los tejidos analizados del total de las muestras estudiadas. Estas lesiones también fueron reportadas por Guzmán et al. (2017) en el CCBS en *O. niloticus*, por Andrinolo et al. (2008) y Guiannuzzi et al., (2017) en ensayos de intoxicación sub-cronica por inyección i.p de 25 µg.Kg peso de MC-LR en

ratones. Estos autores reportaron importantes alteraciones de la arquitectura hepática, como dilatación notoria de sinusoides, macrovacuolas lipídicas intracitoplasmáticas y binucleación acompañada de disaríasis nuclear.

La **hemorragia** se observó en 26% de los tejidos de hígado, en menor grado que los reportados por Guzmán et al., (2017) (51%). Según Carmichael (1992), los efectos de la intoxicación aguda producida por la microcistinas y las principales consecuencias son la ruptura de capilares sinusoidales, hemorragias y pérdida de la arquitectura hepática.

La **turgencia** se observó como el abultamiento o hinchamiento parcial de los hepatocitos en 18% de de los tejidos observados, también reportado por Guzmán et al., (2017) en *O. niloticus* expuestos a MC en un ambiente natural.

6.2 VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS.

La interacción entre factores físicos, químicos y bióticos define la heterogeneidad ambiental, factor clave en la determinación de la diversidad y patrones de sucesión del fitoplancton. La energía del sol es utilizada por los organismos vegetales para sintetizar glucosa a partir de dióxido de carbono y nutrientes, como nitrógeno y fósforo. Sin embargo, cuando estos nutrientes se encuentran en concentraciones muy elevadas debido a efectos antrópicos, favorecerá el desarrollo excesivo de fitoplancton, conocido como florecimiento o “*bloom*” (Guiannuzzi et al., 2017). Este fenómeno provoca modificaciones a nivel físico, químico y biológico en los ecosistemas acuáticos, trayendo como consecuencia fuertes oscilaciones de ciertos parámetros físico-químicos como oxígeno, transparencia, pH, y conductividad (Roldan, 1992).

6.2.1 Temperatura (t °C)

La temperatura deriva directamente de la radiación solar, regula diversos procesos químicos, físicos y biológicos que se llevan a cabo en los ecosistemas acuáticos (Roldan, 1992). El aumento de la temperatura tiene un efecto directo sobre el crecimiento del fitoplancton y produce cambios en las

condiciones hidrodinámicas de los sistemas, como el aumento del período de estratificación, que favorecen la ocurrencia de floraciones de cianobacterias (Oliver & Ganf, 2000, Pearl & Huisman, 2009).

El comportamiento de la temperatura en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS), está ligado a las variaciones estacionales y la dinámica del ecosistema, dichas variaciones están relacionadas con los periodos de aguas altas (septiembre, octubre, noviembre) y aguas bajas (enero, febrero, marzo) (Herazo, 2016). En los meses de aguas bajas se observaron los rangos de mayor valor de temperatura (figura 15A), esta condición puede asociarse con dos factores: el primero se refiere a la transferencia de la energía calórica desde el agua hacia el aire y viceversa, y el segundo se asocia al trabajo del viento sobre la columna de agua (Ríos et al., 2008).

En Momil se registraron los rangos de mayor valor de temperatura respecto a la Estación San Sebastián (SSEB); este hecho puede atribuirse a la mayor transparencia presentada en los meses de noviembre, enero y febrero característica que genera que el color de las aguas se oscurezca y absorba más calor (Herazo et al., 2016). Sin embargo, otros factores que pudieron incidir fue la hora del día en que se tomó este parámetro, puesto que en SSEB la temperatura se tomó en las horas de la mañana (8:00-9:00 am), mientras que para Momil este parámetro se tomó en un lapso de 10:00 am a 11:30 am, esto refleja la intensa incidencia de la radiación solar sobre la superficie del agua, dando como resultado el calentamiento de la misma (Ríos et al., 2008).

6.2.2 Transparencia (cm)

La transparencia, definida como la porción del cuerpo de agua iluminado o zona eufótica, puede variar desde algunos centímetros hasta decenas de metros, y su extensión depende principalmente, de la capacidad del medio para atenuar la radiación subacuática que depende de la concentración de las sustancias disueltas o suspendidas en el agua, la turbiedad producida por materiales externos al sistema se denomina alóctona y la originada por la

productividad primaria se denomina autóctona (Esteves, 2011; Galarza et al., 2016).

El comportamiento de la transparencia en el CCBS en este estudio (figura 29B) probablemente estuvo regido por la dinámica hídrica del río Sinú, en épocas de aguas altas se presentaron los valores más altos de transparencia, concordando con lo reportado por Ayala y Julio, (2014); Herazo et al., (2016) en las ciénagas de Momil y San Sebastián. Esta variable está asociada al ascenso y descenso del nivel de las ciénagas en el año, de modo que en aguas altas (Aa) la transparencia aumenta y en aguas bajas (Ab) la profundidad disminuye generando una resuspensión del sedimento, aumentando la turbiedad producida por materiales externos al sistema de características alóctonas y la originada por la productividad primaria como fuente autóctona (Esteves, 2011; Galarza et al., 2016), trayendo como consecuencia una baja transparencia para este periodo (Leguizamo et al., 2008).

Según Carlson (1977), Aizaki et al (1981), el Índice de Estado Trófico (TSI), está asociado con la transparencia: oligotrófico (TSI < 30), mesotrófico (TSI > 30 - < 60), eutrófico (TSI > 60 - < 90) e hipereutrófico (TSI > 90).

En el presente estudio los resultados obtenidos para el TSI presentaron valores similares entre estaciones. En la estación de San Sebastián el TSI fue calculado en 73,24 y para Momil de 75,98. Con base en la teoría relacionada, el CCBS se considera como un ambiente eutroficado. Esta situación se da como consecuencia del aporte de nutrientes excesivo de origen alóctono (fertilizantes, detergentes y residuos domésticos), realización de actividades agrícolas y descargas de tipo doméstico. Esta condición promueve el desarrollo de floraciones de cianobacterias tóxicas capaces de producir toxinas perjudiciales para la salud humana y animal (Carlson, 1977; Leguizamo et al., 2008).

6.2.3 Conductividad ($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$)

Esta variable refleja la mineralización de las aguas (sólidos disueltos), dado que conjuga los cationes sodio, potasio, calcio, magnesio, así como los aniones carbonato, bicarbonato, sulfatos y cloruros principalmente. Se correlaciona por lo tanto con la dureza (calcio, magnesio) y la alcalinidad (principalmente bicarbonatos, carbonatos, hidroxilos) (Ramírez y Viña, 1998).

En el CCBS, el régimen hidrológico juega un papel predominante en las variables físicas y químicas debido a efectos sobre el nivel del agua en todo el ecosistema, influyendo de manera diferente en cada ciénaga. En este sentido, para la época de estiaje el bajo volumen del CCBS tiende a concentrar la mayor carga orgánica e inorgánica en unas zonas más que en otras. De otra parte, la evaporación y aportes antrópicos, causan un aumento sustancial en el gradiente de la conductividad, esta condición favorece al desarrollo y abundancia de las cianofitas (Ramírez y Viña, 1998; Leguizamo et al., 2008), debido a que éstas son eficientes en la asimilación de compuestos orgánicos e inorgánicos con alta concentración (Cantoral et al., 2017). Esta situación se ve reflejada en los registros de la conductividad reportados para esta investigación (figura 29C). Si bien en el mes de enero época de aguas bajas (Ab) se registró un valor relativamente bajo respecto a los otros meses de aguas bajas, (febrero y marzo) en SSEB, una menor disociación y mineralización de los sólidos disueltos posiblemente por la transición de aguas altas a aguas bajas, podría ser una explicación. Es importante destacar que, desde la construcción de la hidroeléctrica URRRA-I se presenta un régimen controlado de las aguas del río Sinú, por ende, altera la dinámica de las ciénagas, trayendo consigo variaciones en la disponibilidad de recursos tróficos y provocando cambios en las variables físico-químicas. El descenso de la conductividad en el mes de enero puede atribuirse a este hecho (Leguizamo et al., 2008).

6.3.2 Oxígeno

Entre los gases de mayor importancia se encuentra el oxígeno (O_2), el cual regula múltiples reacciones químicas que influyen sobre los procesos metabólicos de producción de energía y de reproducción de todos los organismos heterotróficos en los ecosistemas acuáticos. Las principales fuentes de oxígeno para el agua son la atmósfera y la fotosíntesis. El consumo, la descomposición de la materia orgánica (oxidación) se traducen en pérdidas al igual que la respiración de los organismos acuáticos y la oxidación de algunos iones metálicos como hierro (Fe) y manganeso (Mn) (Esteves, 2011).

El comportamiento del oxígeno registró importantes variaciones entre estaciones de muestreo, presentándose los valores más bajos para la estación de SSEB en las épocas de aguas altas (figura 29D), estos resultados concuerdan con lo reportado por Leguizamo et al., (2008) para la misma ciénaga. Este hecho resulta de la alta acumulación de la materia orgánica disuelta y particulada de origen alóctono que llega a la ciénaga por escorrentía, lo que conduce a un enriquecimiento con nutrientes, a su vez incrementa considerablemente la demanda bioquímica de oxígeno (DBO). El estado de eutroficación de la ciénaga junto al aumento de la DBO, causan un efecto de sinergismo que disminuye gradualmente las concentraciones de oxígeno en las horas de la noche y la madrugada (Ramírez y Viña, 1998).

En Momil se registró el valor mayor de oxígeno (figura 29D). Ayala y Julio, (2014); Herazo et al., (2016) reportaron valores similares para la misma estación, atribuyendo a este hecho la presencia de macrofitas acuáticas (limnofitos) y una gran abundancia de fitoplancton, lo cual refleja una alta tasa fotosintética.

6.2.5 pH

El pH es una medida que representa la concentración de iones hidrogeniones, o protones (H^+) en el agua. El valor de pH $-\log [H^+]$ o es igual al logaritmo

negativo de la concentración de protones presentes en una muestra de agua (Meyer, 2004).

Con relación al pH no se observaron diferencias significativas entre estaciones de muestreos, los valores promedios reportados se encuentran dentro del rango característico para aguas dulces (6,7 - 8,5). Sin embargo, se destaca el hecho de que el menor valor se presentó en época de aguas altas respecto al periodo de aguas bajas (figura 29E). Este comportamiento está ligado a la descomposición de la materia orgánica, lluvias y sobresaturación de CO₂ proveniente de la atmosfera, finalmente esta serie de sucesos explica la disminución en el pH (Cataño et al., 2008).

Cuando los lagos se tornan eutróficos, la diversidad del fitoplancton disminuye, lo que conduce a que las cianobacterias prevalezcan. Diferentes factores ambientales favorecen el predominio de las cianobacterias; dentro de estos se destacan valores altos de pH (6,5 a 8,5) (Martin, 2000), propios de ambos sitios de muestreo, dentro del periodo de estudio.

6.3 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

El análisis de Componentes Principales (ACP) es una herramienta estadística que transforma un conjunto de variables en un número menor de variables (llamadas dimensiones, Componentes Principales o Componentes), que contienen la mayor parte de la información (varianza) del conjunto inicial (Almenara et al., 1998; Ávila et al., 2015).

El Anexo 5 presenta el algoritmo y análisis estadístico para representar en forma de vectores las variables independientes (activas) y dependientes (suplementarias) más significativas, que dan explicación al modelo de correlación multidimensional entre ellas.

Se observó una correlación significativa ($p < 0,005$) (ANEXO 5), entre las variables ambientales y las lesiones histológicas asociadas con MC's. Según Carlso (1977), Aizaki et al. (1981), la transparencia (en sentido negativo a la

turbidez), está correlacionada con la aparición de floraciones algales y a partir de esta variable se pudo determinar que el índice del estado trófico (TSI) de este ecosistema es eutrófico, con altas concentraciones de nutrientes (principalmente nitrógeno y fósforo), condiciones que favorecen el establecimiento y la proliferación de florecimientos de cianobacterias. La flexibilidad morfológica y fisiológica de algunos de los representantes de este grupo las hace competitivamente más exitosas frente a otros grupos de microalgas por la gran variedad de adaptaciones para su desarrollo en estas condiciones, como lo son la presencia de pigmentos accesorios; ficobilinas y carotenoides, los cuales permiten a las cianobacterias extender el rango de absorción lumínica que pueden utilizar para los procesos fotosintéticos. De esta manera, logran crecer en condiciones de luz que no son óptimas para el resto de los componentes del fitoplancton Giannuzzi et al., (2017). Las floraciones de cianobacterias están asociadas a la producción de metabolitos tóxicos como la MC, influyendo así, sobre la aparición de lesiones histológicas en branquias e hígado (Ramirez-Garcia et al., 2005; Giannuzzi et al., 2017).

En relación a la distribución espaciotemporal, en la figura 17, se observa que el cluster conformado en la componente F1, corresponden a los muestreos en las estaciones San Sebastián (SS) y Momil (MM) en época de aguas altas, asociados al aumento de la transparencia. En la época de aguas bajas en las estaciones de San Sebastián (SS) y Momil (MM) se presentó disminución de la transparencia asociada al aumento de la densidad de cianobacterias. Herazo et al., (2016) reportó presencia de MC en agua, en las ciénagas de San Sebastián y Momil, encontrando una concentración promedio de 1,524 mg.L⁻¹ de esta toxina en ambos regímenes hidrológicos, hecho que podría explicar la aparición de lesiones histológicas de branquias e hígado en la población estudiada. En este estudio se observó que en época de aguas bajas se encontró el mayor número de lesiones asociadas a MC, debido quizás al hábito alimenticio de *P. magdalenae*, el cual se encuentra relacionado con los patrones hidrológicos de inundación y estiaje; durante las aguas altas, el

bocachico permanece en las ciénagas alimentándose de materia orgánica en descomposición (detritos, diatomeas y algas verde-azules), aportada principalmente por la vegetación acuática en forma de perifiton (Maldonado-Ocampo, 2005; Mojica et al., 2012), lo que conlleva a una mayor bioacumulación de la cianotoxina en esta época y a la expresión del agente xenobiotico (MC) en aguas bajas por tiempo de exposición, explicando un aumento en el número de alteraciones por exposición crónica asociadas a la cianotoxinas, en los tejidos estudiados. (Lucena, 2008; Cantoral et al., 2017; Giannuzzi et al., 2017).

Las lesiones en branquias detectadas en este estudio se presentaron de manera simultánea con las lesiones en hígado de un mismo individuo, como se muestran en las figuras 24 y 26. En general, los hallazgos coincidieron con los trabajos de Prieto et al, (2008); Cantoral et al., (2017); Giannuzzi et al., (2017), quienes confirman que las modificaciones del ambiente influyen sobre la floraciones de cianobacterias productoras de cianotoxinas, como son la intensidad lumínica, temperatura, pH, conductividad, entre otros.

7 CONCLUSIONES

- Durante esta investigación se evidenció que el 100% de las muestras estudiadas de *P. magdalenae* obtenidas en el CCBS entre septiembre del 2017 y marzo del 2018 presentaron algún tipo de alteración histológica, tanto en branquias como hígado.
- En el tejido branquial, las seis lesiones específicas para MC's: atrofia de lamelas, pérdida de función lamelar, hiperemia, fusión de lamelas, degeneración de lamelas y telangiectasia, con una frecuencia de aparición que fluctuó entre 57% y 33%, con grados de severidad entre grave y severo.
- En el tejido hepático se las lesiones reportadas por los autores asociadas a las MC's (Degeneración plumosa, acompañada de necrosis, vacuolización, hepatocitos binucleados, hemorragia, dilatación de los sinusoides y turgencia), con una frecuencia mayor del 50% y grado de severidad entre leve y moderado.
- En general, el grado de severidad de las alteraciones histológicas en branquias e hígado, se presentaron en toda la gama de grados, siendo grado II y III los más frecuentes.
- El ACP evidenció la relación existente entre las variables físicas y químicas, con la frecuencia de lesiones en ambos órganos, siendo la transparencia, el pH y la conductividad las variables respuesta más significativas.
- Con un grado de certeza de aproximadamente 84,04% y un nivel de significancia del 95%, se puede inferir que los peces bocachico *P. magdalenae* provenientes de CCBS, durante el período de estudio y expuestos a cianobacterias, están siendo afectados por la MC's.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera M. La economía de las ciénagas del Caribe colombiano. Bogotá: Banco de la República; 2011.
- Aizaki, M. Otsuki, O. Fukushima, M. Hosomi, M. and Muraoka. Application of Carlson's trophic state index to Japanese lakes and relationships between the index and other parameters. *Verh. Internat. Verein Limnol.* 1981: 21; 675-681 Pp.
- Almenara J, González JL, García C, Peña P. ¿Qué es el análisis de Componentes principales? *Jano* 1998; 1268:58-60.
- American Public Health Association (APHA). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*: 14th edition. Washington D.C (U.S.A): American Public Health Association; 1975.
- Andrinolo D, Sedan D, Telese L, Aurab C, Maserab S, Giannuzzi L. et al., Hepatic recovery after damage produced by sub-chronic intoxication with the cyanotoxin microcystin LR. *Rev. Toxicon.* 2008: 51; 457-467 Pp.
- Arango C, Hernández K. Caracterización de la comunidad fitoplanctónica de las ciénagas de Momil y Purísima (CCBS), Córdoba- Colombia [Trabajo de pregrado]. Montería (Col): Universidad de Córdoba; 2009.
- AUNAP-UNIMAGDALENA. Informes gráficos capturas desembarcadas Sepec, en el Sinú para Momil Córdoba. AUNAP-UNIMAGDALENA (serie en línea) 2016. Disponible en: <http://sepec.aunap.gov.co/InformesAvanzados/DesembarcoEspecie>.
- Ávila H, García S, Rosas J. Análisis de Componentes Principales, como herramienta para interrelaciones entre variables fisicoquímicas y biológicas en un ecosistema léntico de Guerrero, México. *Revista Iberoamericana de Ciencias.* 2015: Vol. 2(3); 43-53 Pp. ISSN 2334-2501.
- Ayala K, Julio S. Rasgos morfológicos de las cianobacterias asociadas a los sectores Momil y San Sebastián del Complejo Cenagoso del Bajo Sinú- Córdoba, Colombia [Trabajo de pregrado]. Montería (Col): Universidad de Córdoba; 2014.
- Barato P, Penagos G, Iregui C, Figueroa J, Figueroa J, "Mapa Epidemiológico De Las Enfermedades De Los Peces Ornamentales En Colombia": Colombia: Editorial Universidad Nacional De Colombia 2012: Vol. 1; 125 Pp. ISBN: 978-958-761-241-7
- Bernet D, Schmidt H, Meier W, Burkhardt-Holm P, Wahli T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J Fish Dis* 22: 1999; 25–34.

- Bhujel R. Statistics For Aquaculture. 1 St ed: U.S.A: Editorial office; 2008. ISBN-13:978-0-8138-1587-9/2008.
- Blas I, Ruiz I, Bayot B, Ferreria C. Manual de Epidemiología Veterinaria. Zaragoza (ESP): Universidad de Zaragoza; 2008. ISBN: 978-84-611-6215-4
- Bonilla S, Haakonsson S, Somma A, Gravier A, Britos A, Vidal L, De León L et al., Cianobacterias y cianotoxinas en ecosistemas límnicos de Uruguay. Rev.del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (Serie en línea) 2015; Vol. 10: 9 -22 Pp. ISSN 1688-3691.
- Buyo A, Arribas I. Tema 9: Trastornos hemodinámicos: Edema, hiperemia y congestión, hemorragia, hemostasia y trombosis; 2008.
- Campagna A, Fracácio R, Kawamura B, Eler M, Fenerich N, Gaeta E. Análisis de la toxicidad de los sedimentos del río Monjolinho, Sao Carlos, estado de Sao Paulo, Brasil, utilizando el estudio, el crecimiento y la morfología de las branquias de dos especies de peces (*Danio rerio* y *Poecilia reticulata*). Rev. Archivos Brasileños de Biología y Tecnología (Serie en línea) 2008; Vol. 51 (1): 193-201 Pp. ISSN 1516-8913.
- Cantoral E, Asencio A, Aboal M. Cianotoxinas: efectos ambientales y sanitarios. Medidas de prevención. Rev. Hidrobiológica (Serie en línea) 2017; Vol. 27 (2): 241-251 Pp.
- Carbis CR, Rawlin GT, Grant P, Mitchell GF, Anderson JW, McCauley I. The histopathology of carp, *Cyprinos carpio* L., exposed to microcystin by gavage, immersion and intraperitoneal administration. Rev. Journal of Fish Diseases 1996; Vol. 19: 199-207 Pp.
- Carlson R. A trophic state index for lakes. Limnol. Oceanogr. 1977: 22; 361-369 Pp. Carmichael W W. Cyanobacteria Secondary metabolites the cyanotoxins. J App Bacteriol 1992; 72: 445-459 Pp.
- Carmichael W W. Cyanobacterial Toxins. En: Hallegraeff GM, Anderson DM, Cembella AD: Manual on Harmful Marine Microalgae. IOC Manuals and Guides no. 33. UNESCO 1995; 163-175 Pp.
- Carmichael W, Boyer G. Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. Rev. Harmful Algae 2016; Vol. 54: 194-212 Pp. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2016.02.002>
- Carmichael WW. Toxic Microcystis and the Environment. En: Watanabe MF, Harada K, Carmichael WW H, Fujiki H. Toxic Microcystis. CRC Press, Boca Raton, 1996; 1-11 Pp.
- Cascales M, Ferrándiz F. Aspectos bioquímicos y farmacológicos en disfunciones hepáticas. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas; 1987. ISBN: 84-00-06499-2.

- Cataño Y, Quirós J, Arias J, Novoa J, Genes F. Estudio de la vegetación acuática en un área de inundación de la ciénaga grande del bajo Sinú, sector Purísima, departamento de Córdoba, Colombia. *Rev. Asoc. Col. Cienc. Biol. (Col.)* 2008; Vol. 20: 34-47 Pp.
- Chen, L., Chen, J., Zhang, X., Xie, P. A review of reproductive toxicity of microcystins. *J. Hazard. Mater.* 2015; 301: 381–399 Pp.
- Chorus I, Falconer I. Riesgos a la salud causados por cianobacterias y algas de agua dulce en aguas recreacionales (Serie en línea); 1998. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/237789699_riesgos_a_la_salud_causados_por_cianobacterias_y_algas_de_agua_dulce_en_aguas_recreacionales
- Clária T, Titos E. La célula de Kupffer. *Gastroenterol Hepatol* 2004; 27(4): 264-73
- Cong D. Cyanobacteria blooms: from impacts on the environment to management strategies. [Trabajo de Grado]. Kansas (U.S.A): Kansas State University; 2015.
- Cox PA, Sacks OW. Cycad neurotoxins, consumption of flying foxes, and ALS-PDC disease in Guam. *Rev. Neurology* 2002; Vol. 58(6); 956-
- Drobac D, Tokodi N, Lujic J, Marinovic Z, Subakov-Simic G, Dulic T, Vaz'ic T, Nybom S, Meriluoto J, Codd G, Svirc'eva Z. Cyanobacteria and cyanotoxins in fishponds and their effects on fish tissue. *Rev. Harmful Algae* 2016; Vol. 55: 66-76 Pp.
- Environmental Health Perspectives (ehp). La incipiente ciencia de la BMAA. ¿Contribuyen las cianobacterias a las enfermedades neurodegenerativas?: *Rev. Salud pública de México* 2012; Vol. 54 (4).
- Esteves, F. Fundamentos de Limnología. Editora Interciencias Ltda. Brasil. 1988. 575 Pp.
- Esteves, Francisco de Assis. Fundamentos de limnologia. Rio de Janeiro (Bra): 2. Ed Interciência; 2011.
- Falconer I. R. Tumor promotion and liver Injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Rev. Environmental Toxicology and Water Quality* 1991; 6:177-184 Pp.
- Falkeholm L. "Xylene-Free Method for Histological Preparation: A Multicentre Evaluation". *Lab Invest.* 2001; Vol. 81: (9), 1213 Pp.
- Falkeholm L. Going green: Using water, not xylene (Letter). *Lab Med* 1996; No 27, 638 Pp.
- FAO, Manual Básico de Sanidad Piscícola: Capítulo 4. Métodos de intervención en caso de aparición de enfermedades: FAO; 2011.

- Fastner J, Neumann U, Wirsing B, Weckesser J, Wiedner C, Nixdorf B et al., Microcystins (Hepatotoxic Heptapeptide) in German Fresh Water Bodies. Rev. Environmental Toxicology 1999; Vol. 14: 13-22 Pp.
- Feist S.W, Stentiford G.D, Kent M.L, Ribeiro A, Lorance P. Histopathological assessment of liver and gonad pathology in continental slope fish from the northeast Atlantic Ocean. Rev. Marine Environmental Research. 2015; 106: 42-50 Pp.
- Ferguson HW. Systemic Pathology of Fish. Second Edition. Scotian Press; 2006.
- Fischer, W.J., Altheimer, S., Cattori, V., Meier, P.J., Dietrich, D.R., Hagenbuch, B. Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin Toxicol. Appl. Pharmacol 2005; 203: 257–263 Pp.
- Géry J. Characoids of the World. TFH Publications. USA 1977; 672 Pp.
- Giannuzzi, Aguilera, Valeria Amé, Andrinolo, Bauzá, Benítez et al., Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud. 1a ed: Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación; 2011.
- Godoy G. Aneurisma (Telangiectasia) branquial: Artefacto o hallazgo patológico agudo; 2013. <http://www.marcosgodoy.com/index.php>
- Godoy M. Hemorragia renal en Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) afectada por el Síndrome de hematomas y ruptura hepática V: Histopatología; 2014. <http://www.marcosgodoy.com/index.php>
- Gómez y Cajiao LTDA. Estudios hidrológicos Ciénaga Grande de Lorica. CVS. Bogotá. 1991.
- González E, Carrillo V, Peñaherrera C. Características físicas y químicas del embalse agua fría (Parque nacional Macarao, Estado Miranda, Venezuela). Rev. Acta Científica Venezolana 2004; Vol. 55: 225-236 Pp.
- Gutierrez D, Jos A, Pichardo S, Moyano R, Blanco A, Monterde J, Camean A. Time-dependent histopathological changes induced in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) after acute exposure to pure cylindrospermopsin by oral and intraperitoneal route. Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2012: Vol. 76; 102-113 Pp.
- Guzmán E, Páez C. Herazo D, Vallejo A. Alteraciones histológicas en hígado y branquias de Tilapia Nilótica *Oreochromis niloticus*, asociadas a microcistina. En: Congreso de Ficología de Latinoamérica y el Caribe y la IX reunión iberoamericana de ficología; XI versión: Cali (Col); 2017. ISSN:2619-533X

- Hammer U. Toxic Blue-Green Algae in Saskatchewan. Rev. The Canadian Veterinary Journal 1968: Vol. 9(10); 221-229 Pp.
- Herazo D, Arango C, Mogollón M, Ayala K, Julio S. Rasgos morfológicos de las cianobacterias asociadas a los sectores Momíl y San Sebastián del complejo cenagoso del Bajo Sinú-Córdoba, Colombia. Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas; N° 26: Suplemento 01. ISSN: 0120-4173.
- Herazo D, Vallejo A y Mogollon M. Detección de microcistinas en *Oreochromis niloticus* en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS), Córdoba-Colombia. En: 1er Congreso de Toxicología Ambiental: Villavicencio (Col); 2016. ISSN: 2500-896X
- Huancaré K. Identificación histopatológica de lesiones inducidas por bioacumulación de metales pesados en branquias, hígado y músculo de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de cultivo en etapa comercial de la laguna de Mamacocha, área de influencia minera, Cajamarca-Perú [Trabajo de pregrado]. Lima (Per): Universidad de San Marcos; 2014.
- ICA. Manual de buenas prácticas de laboratorio para el registro ante el ICA. 2007; 1-28 Pp.
- INECC. Manual de procedimientos estándares para el análisis histológico e histopatológico en organismos acuáticos. México 2009; 22 Pp.
- Jaramillo González F. Toxicología básica. Aguascalientes: Universidad Autónoma de Aguascalientes; 2006.
- Kruk C, Huszar V.L.M, Peeters E.T.H.M, Bonilla S, Costa L, Lüring M, Reynolds C.S, et al., A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. Rev. Freshwater Biology 2010; 55(3): 614-627 Pp. Doi:10.1111/j.1365-2427.2009.02298.x
- Le Manach S, Sotton B, Huet H, Duval C, Paris A, Marie A, Yepremian C et al., Physiological effects caused by microcystin-producing and nonmicrocystin producing *Microcystis aeruginosa* on medaka fish: A proteomic and metabolomic study on liver. Rev. Environmental Pollution 2018; Vol. 234: 523-537 Pp. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.011>
- Leguizamo B, Mogollon M, Duque R.S.R, López W. Caracterización de la comunidad fitoplanctónica de la Ciénaga de San Sebastián, complejo cenagoso del Bajo Sinú, departamento de Córdoba - Colombia. Revista de Ciencias Univ. del Valle 2008; Vol. 12: 20.
- Leyton F. S, Muñoz E, Gordillo S. M, Sánchez G, Muñoz L, Soto D. A. Estimación del factor de condición de fulton (k) y la relación longitud- peso en tres especies ícticas presentes en un sector sometido a

- factores de estrés ambiental en la cuenca alta del río Cauca. Rev. Asoc. Col. Cienc. Bio. 2015; Vol. 27: Pp 21-28.
- López R. Algoritmos útiles para el diagnóstico histopatológico de la enfermedad hepática con base en los patrones de daño hepático. Rev. Col Gastroenterol 2016; 31 (4).
- López R. Enfermedad hepática grasa. Aspectos patológicos. Rev Col Gastroenterol 2014; 29 (1).
- Lucena E. Aspectos sanitarios de las cianotoxinas. Rev. Higiene y Sanidad Ambiental 2008; Vol. 8: 291-302 Pp.
- Magalhães VF, Soares RM, Azevedo SMFO. Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. Toxicon. 2001;39(7):1077–1085.
- Mago-Leccia F. Consideraciones sobre la sistemática de la familia Prochilodontidae (Osteichthyes, Cypriniformes), con una sinopsis de las especies de Venezuela. Acta Biol. Venez. 1972; Vol. 8: 35-96 Pp.
- Malbrouck C, Kestemon P. Effects of microcystins on fish. Rev. Environ Toxicol Chem 2006; 25: 72-86.
- Maldonado-Ocampo J. A., Ortega-Lara, A., Usma-Oviedo, J. S., Galvis-Vergara, G., Villa-Navarro F. A., Vasquez-Gambona, L., Prada-Pedrerros, S y Ardila C. Peces de los Andes de Colombia. 1 ed. Bogotá D.C. Colombia, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt 2005; 346 Pp.
- Martin, T. 2000. Cyanobacterial dominance in lakes. Hydrobiol 438: 1-12
- Martoja R, Martoja-Pierson M. Técnicas de histología animal. Toray-Masson. Barcelona (Esp); 1970.
- Mogollón M. Ecología del fitoplancton en dos sistemas cenagosos del Caribe Colombiano. Trabajo de Investigación presentado como requisito para optar al título de Magíster en Ciencias Ambientales. SUE-CARIBE 2011; 157 Pp.
- Mojica I. Evaluación del rendimiento de la técnica de procesamiento histotecnológico libre de xilol versus la técnica convencional en el Laboratorio de Patología Interfacultades de la Universidad Nacional de Colombia [Trabajo de Grado]. Bogotá D.C. (Col): Universidad Nacional de Colombia; 2012.
- Mojica J, Álvarez R. *Prochilodus magdalenae*. Pp. E n: Mojica, J. Castellanos, C. Usma, J. S. y Alvarez, R. (Editores). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. La serie libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Bogotá, Instituto de ciencias naturales, Universidad Nacional de Colombia. 2002; 288 Pp.

- Mojica, J. I.; J. S. Usma; R. Álvarez-León y C. A. Lasso (Eds). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia 2012. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, WWF Colombia y Universidad de Manizales. Bogotá, D. C., Colombia. 2012; 319 Pp.
- Montuenga L, Esteban FJ, Calvo González A. Técnicas en Histología y Biología Celular. Barcelona, Madrid: Elsevier Masson; 2009.
- Moreno I, Repetto G, Cameán A. Interés toxicológico de las microcistinas. Rev. Toxicol. (2003); 20: 159-165 Pp.
- Nishiwaki-Matsuhima R, Ohta T, Nishiwaki S, Sugunuma M, Kohyama K, Ishikawa T, Carmichael WWE, Fujiki H. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1992; Vol. 118: 420-424 Pp.
- Noffke, N., Knoll, A.H., Grotzinger, J.P. Benthic cyanobacteria and their influence on the sedimentary dynamics of peritidal depositional systems (siliciclastic, evaporitic salty, and evaporitic carbonatic). Rev. Elsevier Science B.V. All rights reserved (Serie en línea) 2003. Doi:10.1016/S0012-8252(02)00158-7.
- NTC-ISO 17025 Norma Técnica Colombiana. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración; 2005.
- Odum, Eugene y Gary W. Barret. Fundamentos de ecología, 5ª. ed; 2006. ISBN 970-686-470-9.
- Olaya-Nieto C.W., Segura-Guevara, F.F., Brú-Cordero, S.B., Blanco H. Biología reproductiva del Bocachico (*Prochilodus magdalenae* Steindachner, 1878) en el río Sinú (Colombia) 2003; 727-734 Pp: CIVA 2003 (<http://www.civa2003.org>).
- Olaya-Nieto, Fishbase org. Foto de *Prochilodus magdalenae* Steindachner 1879; 2002. Disponible en: <http://www.fishbase.org/summary/Prochilodus-magdalenae.html>
- Oliver, R y Ganf, G. Freshwater Blooms. The Ecology of Cyanobacteria. B. Whiton and M. Potts. Dordrecht, Kluwer Academic Press. 2000: 668 Pp.
- Oscoz, J., Campos, F. y Escala, M.C. Variación de la comunidad de macroinvertebrados bentónicos en relación con la calidad de las aguas. Limnetica. 2006; 25 (3): 683-692 Pp.
- Ostland V, Ferguson H, Prescott J, Stevenson R, Barker I. Bacterial gill disease of salmonids; relationship between the severity of gill lesions and bacterial recovery. Diseases of Aquatic Organisms 1990; 9 (5/14).

- Paerl, H y Huisman, J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Rev. Environmental Microbiology Reports*. 2009; Vol.1: 27-37 Pp.
- Pérez DS, Soraci AL, Tapia MO. Cianobacterias y cianotoxinas: Rol de la microcistina en la salud humana y animal y su detección en muestras de agua. *Analecta veterinaria* 2008; 28(1): 48-56 Pp.
- Pérez N, Arias J, Quiros J. Variación espacio-temporal de plantas vasculares acuáticas en el complejo cenagoso del bajo Sinú, Córdoba, Colombia. *Rev. Acta Biológica Colombiana* 2015; Vol. 20 (3): 155-165 Pp. Doi: <https://doi.org/10.15446/abc.v20n3.45380>.
- Petcheneshsky T, Hansen M, compilado por Leda Giannuzzi. Cianobacterias como Determinantes Ambientales de la Salud. Capítulo 11. Crettaz M, Sedan D, Giannuzzi L. Bioacumulación y biomagnificación de cianotoxinas en organismos acuáticos de agua dulce 2017; 171-186 Pp.
- Petcheneshsky T, Hansen M, compilado por Leda Giannuzzi. Cianobacterias como Determinantes Ambientales de la Salud. 2a ed. ampliada. Ciudad Autonoma de Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nacion. Direccion Nacional de Determinantes de la Salud e Investigación; 2017.
- Pinilla G. Estudio limnológico de varios sistemas lóticos y lénticos aledaños a la reserva Yotoco Valle del Cauca, Colombia Bogotá, D.C. Universidad Nacional, Bogotá (Col) 2016.
- Poleksic V, Mitrovic-Tutundzic V. Fish gills as monitor of sublethal and chronic effects of pollution. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. In: R Muller and R. Lloyd (Eds). Oxford, UK, FAO Fishing News Book 1994: 339 – 352 Pp.
- Prieto AI, Atencio L, Puerto M, Pichardo S, Jos A, Moreno I, Cameán AM. Efectos tóxicos producidos por las microcistinas en peces. *Revista de Toxicología* 2008; Vol. 25, núm. 1-3: 22-31 Pp.
- Puerto M, Prieto A, Jos A, Moreno I, Moyano R, Blanco A, Cameán A. Dietary N-Acetylcysteine (NAC) prevents histopathological changes in tilapias (*Oreochromis niloticus*) exposed to a microcystin-producing cyanobacterial water bloom. *Rev. Aquaculture* 2010; Vol. 306: 35–48 Pp. Doi: doi:10.1016/j.aquaculture.2010.06.020
- Qureshi, I.Z., Bibi, A., Shahid, S., Ghazanfar, M. Exposure to sub-acute doses of fipronil and buprofezin in combination or alone induces biochemical, hematological, histopathological and genotoxic damage in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Rev. Aquatic Toxicology*. 2016: Vol. 179; 103-114 Pp. DOI: 10.1016/j.aquatox.2016.08.012
- Rajeshkumar S, Munuswamy N. Impact of metal on histopathology and expression of HSP 70 in diferrent tissues of Milk fish (*Chanos chanos*)

- of kaattuppalli Island, South East Coast, India. *Chemosphere*. 2011 Apr; 83(4): 415-21. Doi;10.1016/j.chemosphere.2010.12.086. Epub 2011 Jan 22.
- Ramírez A, Viña G. *Limnología colombiana. Aportes a sus conocimientos y estadísticas de análisis*. Bogotá (Col): Ed Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 1998. ISBN 958-9029-06-X
- Ramírez-García P, Martínez-Romero E, Martínez-Salgado M. D, y Eslava Campos C. A. *Cianobacterias, microorganismos del fitoplancton y su relación con la salud humana*. México: Instituto Nacional de Ecología; 2004.
- Rastogi R, Sinha R. They Cyanotoxin-microcystins: current overview. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2014; Vol. 13: 215–249 Pp. DOI 10.1007/s11157-014-9334-6
- Repetto Kuhn G. *Toxicología fundamental (4a. ed.)*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 2009.
- Ríos E, Palacio J, Aguirre N. Variabilidad fisicoquímica del agua en la ciénaga El Eneal, reserva natural Sanguaré municipio de San Onofre-Sucre, Colombia. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia* 2008; N° 46: 39-45 Pp.
- Roberts R. *Patología de los peces*. Ed mundo-prensa: Madrid (Esp); 1981.
- Robles C, Pavan M, Chaperó C, Marcellino R, Cairó F, Mignaqui A. Enteritis hemorrágica en un equino atribuida a *Clostridium perfringens* tipo A. *Rev. Veterinaria Argentina*; 2016 Vol. XXXIII (N° 338):1-8 Pp.
- Rojas M, Mata C, Oliveros A, Salazar R. Histología de branquias, hígado y riñón de juveniles del pez neotropical *Colossoma macropomum* (Characiformes, Characidae) expuesto a tres temperaturas. *Rev. Biol. Trop* 2012; Vol. 61 (2): 797-806 Pp. ISSN-0034-7744.
- Roldan G, *Fundamentos de limnología neotropical*. Medellín (Col): Ed Universidad de Antioquia; 1992. ISBN 958-655-081-7
- Roset J, Aguayo S, Muños MJ. Detección de cianobacterias y sus toxinas. Una revisión. *Revista de toxicología* 2001; Vol. 18: 65-71 Pp.
- Salazar I. *Lugar encantado de las aguas: Aspectos económicos de la Ciénaga Grande del Bajo Sinú*. Cartagena de Indias; 2008.
- Sedan D, Giannuzzi L, Coparoni G, Rosso L, Andrinolo D. *Cianobacterias y cianotoxinas: bases científicas y tecnológicas para la evaluación de la exposición*. Asociación toxicológica argentina 2013; 21. ISSN 0327-9286
- SEPEC 2010. *Pesca y Acuicultura Colombia; 2010*. Disponible en: <http://sepec.aunap.gov.co/Archivos/CCI.2010.PescayAcuicultura.Columbia.pdf>

- SEPEC 2016. Informes gráficos capturas desembarcadas para el Sinú SEPEC; 2016. Disponible en: <http://sepec.aunap.gov.co/InformesAvanzados/Index2>
- Shapiro J. Current beliefs regarding dominance by blue-greens: The case for the importance of CO₂ and pH. Verh. Intern. Verein. Limnol. 1990; Vol. 24: 38-54 Pp.
- Sipiä V, Kankaanpää H, Peltonen H, Vinni M, Meriluoto J, Transfer of nodularin to three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.), herring (*Clupea harengus* L.), and salmon (*Salmo salar* L.) in the northern Baltic Sea. Ecotoxicology and Environmental Safety 2007; 66: 421–425.
- Sipia VO, Kankaanpää H T, Flinkman J, Lahti K, Meriluoto J A O, Time-dependent accumulation of cyanobacterial hepatotoxins in flounders (*Platichthys flesus*) and mussels (*Mytilus edulis*) from the northern Baltic Sea. Environmental Toxicology 2001; 16: 330-336.
- Smith J, Boyer G, Zimba P. A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: Impacts and management alternatives in aquaculture. Rev. Aquaculture 2008; Vol. 280: 5–20 Pp.
- Subsecretaria de Recursos Hídricos (SRH), Universidad Nacional de Córdoba, Universidad Nacional de Santiago del Estero. Programa de monitoreo del embalse río hondo, Informe final. Dirección Provincial de Aguas y Saneamiento, (DIPAS, Córdoba): 2007.
- Tomasini A, Moeller G, Sánchez J, Bravo L. Cianobacterias y Cianotoxinas en el lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Rev. AIDI 2012; Vol. 5(2): 93-101 Pp.
- Universidad Nacional de Colombia. Plan de restauración Ambiental del Canal del Dique. Bogotá: UNAL: 2005; 225 Pp.
- Vallejo A y Newmark F. Estudio de epizootiología de *Penaeus vannamei* en tres fincas camaroneras del Caribe Colombiano. Santa Marta Colombia: Boletín Investigaciones Marinas Costeras; 1999. ISSN 0122-9761
- WHO. Guidelines for Drinking-water Quality, Chapter 11. Microbial fact sheets: Fourth Edition WHO; 2011. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf
- Windle W. Histología quinta edición. Los Angeles (U.S.A): Ed STELLA; 1977. ISBN: 0-07-090931-08
- Wolf J, Baumgartner W, Blazer V, Camus A, Engelhardt J, Fournie J et al., Nonlesions, Misdiagnoses, Missed Diagnoses, and Other Interpretive Challenges in Fish Histopathology Studies: A Guide for Investigators, Authors, Reviewers, and Readers. Rev. Toxicologic pathology. 2015: Vol. 43; 297-325 Pp. DOI: 10.1177/0192623314540229

- Zhao M, Xie S, Zhu X, Yang Y, Gan N, Song L. Effect of dietary cyanobacteria on growth and accumulation of microcystins in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Rev. Aquaculture 2006; Vol. 261: 960-966 Pp.
- Zurawell RW, Chen H, Burke JM, Prepas EE. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of Microcystins in freshwater environments. Rev. J Toxicol Environ Health B. 2005: Vol. 8; 1-37 Pp.

ANEXOS

ANEXO 1. Estadística descriptiva de las variables biométricas talla (cm), peso (g) y Factor de condición (FC) en bocachico *P. magdalenae* en las estaciones de muestreo San Sebastián y Momil del CCBS, Colombia entre septiembre de 2017 a marzo de 2018.

Mes	N° de Muestra	SAN SEBASTIÁN			MOMIL		
		Talla (cm)	Peso (gr)	Factor de condición	Talla (cm)	Peso (gr)	Factor de condición
sep-17	1	28	347	0,0655	26,3	280	0,0096
sep-17	2	27	286	0,0771	27,5	384	0,0065
sep-17	3	27,5	355	0,0628	29	395	0,0065
sep-17	4	27,9	321	0,0707	29	358	0,0075
sep-17	5	27,6	305	0,0738	28	322	0,0084
sep-17	6	26	308	0,0688	28,1	349	0,0075
sep-17	7	28,5	334	0,0693	29,7	429	0,0060
sep-17	8	26,5	277	0,0783	27	331	0,0078
sep-17	9	26,5	305	0,0708	28,6	362	0,0073
sep-17	10	24,5	240	0,0839	28,5	327	0,0084
oct-17	1	27	263	0,0841	26,3	293	0,0090
oct-17	2	26	264	0,0807	27	294	0,0092
oct-17	3	27,5	331	0,0675	26	297	0,0087
oct-17	4	25,5	267	0,0782	26,5	296	0,0090
oct-17	5	28	349	0,0651	27	304	0,0088
oct-17	6	27,3	282	0,0791	27	296	0,0091
oct-17	7	27	285	0,0774	25	271	0,0096
oct-17	8	27,5	316	0,0709	27,3	321	0,0082
oct-17	9	27	287	0,0769	28	317	0,0086
oct-17	10	28	310	0,0736	28	291	0,0097
nov-17	1	25,3	217	0,0962	22,6	184	0,0149
nov-17	2	23,5	189	0,1031	22,3	189	0,0142
nov-17	3	24,3	215	0,0933	21,7	159	0,0176
nov-17	4	25,5	222	0,0947	21,5	155	0,0180
nov-17	5	24,2	190	0,1056	22,5	173	0,0162
nov-17	6	24,2	207	0,0966	20,6	129	0,0224
nov-17	7	23,3	170	0,1141	23	201	0,0134
nov-17	8	25	235	0,0875	23,5	208	0,0130
nov-17	9	24,5	180	0,1131	21,5	163	0,0168
nov-17	10	23,6	190	0,1030	22,3	166	0,0170
ene-18	1	23,2	188	0,1024	23,5	198	0,0140
ene-18	2	26	241	0,0887	21,5	136	0,0217
ene-18	3	22,8	181	0,1046	21	146	0,0192

Mes	N° de Muestra	SAN SEBASTIÁN			MOMIL		
		Talla (cm)	Peso (gr)	Factor de condición	Talla (cm)	Peso (gr)	Factor de condición
ene-18	4	22,5	197	0,0946	22	175	0,0156
ene-18	5	23	201	0,0947	24,5	185	0,0160
ene-18	6	20,5	145	0,1184	23,5	238	0,0108
ene-18	7	24,5	209	0,0969			
feb-18	1	27,5	324	0,0690	26	268	0,0101
feb-18	2	23,5	204	0,0953	24	212	0,0130
feb-18	3	26	282	0,0754	24	230	0,0116
feb-18	4	24,2	244	0,0815	23,1	192	0,0143
feb-18	5	23,5	204	0,0953	23,5	184	0,0155
feb-18	6	23,9	196	0,1010	22,9	200	0,0134
feb-18	7	22	158	0,1162	20,9	132	0,0220
feb-18	8	23,9	184	0,1078	24,9	260	0,0101
feb-18	9	22	162	0,1132	22,4	192	0,0139
feb-18	10	23	192	0,0993	23,1	218	0,0120
mar-18	1	23,5	142	0,1387	24,5	222	0,0124
mar-18	2	24	148	0,1357	23	198	0,0137
mar-18	3	24	164	0,1220	22,5	188	0,0144
mar-18	4	23	148	0,1300	23	184	0,0152
mar-18	5	23,5	156	0,1258	21	156	0,0175
mar-18	6	23	136	0,1419	20,5	136	0,0207
mar-18	7	22,5	132	0,1432	21	158	0,0171
mar-18	8	22,5	124	0,1528	21,3	150	0,0187
mar-18	9	23	128	0,1511	21	160	0,0168
mar-18	10	23	122	0,1588	20,5	160	0,0164
	Promedio	24,9	227,4	0,1133	24,3	234,3	0,0374
	DS	1,990	67,849	0,1257	2,726	78,029	0,1844
	Máx	28,5	355,0	1,0357	29,7	429,0	1,4045
	Mín	20,5	122,0	0,0628	20,5	129,0	0,0060
	CV	8,0%	29,8%		11,2%	33,3%	

ANEXO 2. Cambios histológicos (grados de severidad (escala semicuantitativa) 0; I (0,25); II (0,5); III (0,75) y IV (1.0)) en branquias e hígado de bocachico *P. magdalenae* en el CCBS entre septiembre de 2017 y marzo del 2018.

FECHA DE MUESTREO	ESTACIÓN	ESTACIÓN régimen .hidrológico	MUESTRA	Branquias											Hígado															
				Lesiones inespecíficas						Lesiones específicas					Lesiones inespecíficas						Lesiones específicas									
				B-DegFilam	B-Hipplasia	B-Inflam	B-Hemor	B-PerCitop	B-Necrosis	B-HippiCellFilam	B-AtroLam	B-PerflLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinucl	H-Hemor	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuclPicn	H-HepAnucl	H-Inflam	H-Infiltrac	H-Cariorr	H-Hipetrof	H-NuclPromi
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,25
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 3	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0,75	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 5	0	0	0	0	0	0	0,5	0,75	0,5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 7	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 8	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0,75	
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E100 9	0,5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0,25
sept/17	SAN SEB	SS-Aa	E101 0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,75	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0,25
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E201 1	0	0	1	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E201 2	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0,75	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0,25	
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E201 3	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0,75	0,5	0,5	0,5	0	0	0,75	0	0,25	0,25	0,5	0,75	0,75	0	0	0,25	0,25	0,5	0	0,25
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E201 4	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0	0,5	0,5	0,25	0,25	0,25	0,25	0	0,75	0,25	0	0	0,75	0	0	0,25	0,25	0,25	0	0,5
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E201 5	0	0	0	0	0,75	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,75	0,75	0,5	0,75	0	0,75	0	0	0	0	0	1	0	

FECHA DE MUESTREO	ESTACIÓN	ESTACUÓN régimen hidrologico	MUESTRA	Branquias												Hígado														
				Lesiones inespecificas						Lesiones especificas						Lesiones inespecificas						Lesiones especificas								
				B-DegFiam	B-Hipplasia	B-Inflam	B-Hemorr	B-PerCitop	B-Necrosis	B-HippiCellFiam	B-AtroLam	B-PerfnLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinucl	H-Hemorr	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuclPicn	H-HepAnucl	H-Inflam	H-Infiltrac	H-Cariorr	H-Hipetrof	H-NuclPromi
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E2016	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0,75	
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E2017	0	0	0	0	0	0	0,5	0,75	0,5	0	1	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0	0	
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E2018	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,5	0,5	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0,5	0,75	0	0	
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E2019	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,75	0	0	0	0	0	0	0,75	0	1	0,25		
sept/17	MOMIL	MM-Aa	E2020	0	1	0	0	0,75	0,5	0,25	0,75	0,25	0,75	1	0,25	0,25	0,25	0	0,5	0	0	0	1	0	0	0,25	0,5	0,25	1	0,5
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1021	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1022	0	0	0	0	0	0,75	0,5	0	0,75	0,5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0,75	0,5	
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1023	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0,5	0,75	0,75	0	0	0	0	0	0,75	0,25
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1024	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,75	0	
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1025	0	0	0	0	0	0	0,5	0,75	0,5	0,75	0	0,5	0,5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0,75	0	0,25	
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1026	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0,25	0,75	1	0	0	0	0	0,75	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1027	0	0	0	0	0	0	0,5	0,75	0	0,75	0	0,5	0,5	1	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1028	0	0	0	0	0	0	0,75	0,5	0,25	0,75	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1029	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,75	0,5	1	0	0	0	0	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5
oct/17	SAN SEB	SS-Aa	E1030	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	1	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E2031	0	0	0,75	0	1	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0,5	0,5	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0,5

FECHA DE MUESTREO	ESTACIÓN	ESTACUÓN régimen hidrologico	MUESTRA	Branquias												Hígado														
				Lesiones inespecificas						Lesiones especificas						Lesiones inespecificas						Lesiones especificas								
				B-DegFiam	B-Hipplasia	B-Inflam	B-Hemorr	B-PerCitop	B-Necrosis	B-HippiCellFiam	B-AtroFlam	B-PerfnLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinucl	H-Hemorr	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuclPicn	H-HepAnucl	H-Inflam	H-Infiltrac	H-Cariorr	H-Hipetrof	H-NuclPromi
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E203 2	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,75	0	0	0	0,75	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,75	0,5	0	0,25	
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E203 3	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	1	0	0	0	0	0,5	0	0,75	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E203 4	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0,25	1	0	0,75	0,75	0	0,5	0,75	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,75	0,25	
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E203 5	0	0	0,75	0	0,75	0,75	0	0	0,5	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E203 6	0	0	0,5	0	0,75	0,5	0,25	0,25	0,5	0	0	0,75	0,75	0	1	0,5	0,5	0,75	0	0	0	0	0	0,5	0	0	
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E203 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0,25	0	0	0	0	0	0,75	0	0,25
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E203 8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0	0,25
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E203 9	0	0	0	0	0	0	0,5	0,75	0	0,75	0	0	0	1	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0,75	0	0,5
oct/17	MOMIL	MM-Aa	E204 0	0	0,75	0	0	0	0	0,5	0,5	0,5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,25
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E104 1	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0,75	1	0	
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E104 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,75	0,8	1	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0,75	0	0
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E104 3	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0,25	0,25	0	0,75	0	0	0	0,5	0	0	0	0	1	0	0	0,25
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E104 4	0	0	1	0	0	0,25	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,25	0	0	0	0	0,25	0	0	0	0,25
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E104 5	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0	0,25	0,25	0	0	0	0,5	0	0	0	0	1	0	0	0	0,75	0	0	0	0
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E104 6	0	0	0,25	0	0,5	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,75	0,25	0	0,75	0	0	0	0,75	0	0	0	0
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E104 7	0	0	0,25	0	0	0,5	0	0	0,75	0	0,5	0	0	0,75	0,5	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0

FECHA DE MUESTREO	ESTACIÓN	ESTACUÓN régimen hidrológico	MUESTRA	Branquias												Hígado														
				Lesiones inespecíficas						Lesiones específicas						Lesiones inespecíficas						Lesiones específicas								
				B-DegFiam	B-Hipplasia	B-Inflam	B-Hemorr	B-PerCitop	B-Necrosis	B-HippiCellFiam	B-AtroLam	B-PerfnLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinucl	H-Hemorr	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuclPicon	H-HepAnucl	H-Inflam	H-Infiltrac	H-Cariorr	H-Hipetrof	H-NuclPromi
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E1048	0	0	0	0	0,5	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0,25	
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E1049	0	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0,5	0,75	0	0,5	0,5	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,25	
nov/17	SAN SEB	SS-Aa	E1050	0	0,5	1	0,25	0	0	0,25	0,75	0,25	0	0	0,25	0,25	1	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0,5	0	0	0,25	
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2051	0	0,25	0	0	0	0	0,75	0,75	0,25	0,75	0,5	0,25	0,25	1	1	0,75	0	0	0,25	1	0	0	0,25	0	0,5	0	0
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2052	0	0	0	0	0	0	0,25	1	0	0	0,5	0,25	0,25	0,75	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2053	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0,25	0	0	0	0	0,75	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0	
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2054	0	0	0	0,5	0,5	0,25	0,75	0,5	0,75	1	0,5	0,5	0,5	1	0,75	0,75	0,75	0	0	0	0	0	0,25	0,75	1	0	
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2055	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0,75	0	0	0,75	0	0	0,75	0,5	
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2056	0	0	0	0	0,25	0,5	0	0	0	0	0,25	0,25	0,25	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2057	0	0	0,5	0	0	0,5	0	0	0	0,25	0	0	0	0	0,25	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2058	0	0	0	0	0	0,25	0	0,25	0,25	0	0	0	0	0,75	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0,75	0	0,75	0	0
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2059	0	0	1	0,75	0,5	1	0,25	0	0,25	0	0	0,75	0,75	0	0	0	1	0,75	0	0	0	0,5	0	0	0	1	0
nov/17	MOMIL	MM-Aa	E2060	0	0	0,75	0	0,75	0,75	0	0,25	0,25	0	0	0	0	0,5	0	0	0,75	0	0	0	0,75	0,5	0	0	0	0,75	0,5
ene/18	SAN SEB	SS-Ab	E1061	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	1	0	0	0	1	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0
ene/18	SAN SEB	SS-Ab	E1062	0	0,75	0	0,5	0,75	0	0,75	0,25	0	0,75	0,75	0,25	0,25	1	0	0,5	0,75	0,5	0,5	0,5	0	0	0,25	0	0,5	0	0,75
ene/18	SAN SEB	SS-Ab	E1063	0	0,25	0	0,25	0,5	0,5	0,25	0,5	0,25	0	0,5	0	0	0,75	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0

FECHA DE MUESTREO	ESTACIÓN	ESTACUÓN régimen hidrologico	MUESTRA	Branquias												Hígado														
				Lesiones inespecificas						Lesiones especificas						Lesiones inespecificas						Lesiones especificas								
				B-DegFiam	B-Hipplasia	B-Inflam	B-Hemorr	B-PerCitop	B-Necrosis	B-HippiCellFiam	B-AtroFlam	B-PerfnLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinucl	H-Hemorr	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuclPicn	H-HepAnucl	H-Inflam	H-Infiltrac	H-Cariorr	H-Hipetrof	H-NuclPromi
ene/18	SAN SEB	SS-Ab	E1064	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0,25	0	0,25	0,25	0,5	0,5	0	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,75	0
ene/18	SAN SEB	SS-Ab	E1065	0	0	0	0	0,75	0	0	0,25	0,5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0
ene/18	SAN SEB	SS-Ab	E1066	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0,75	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,25
ene/18	SAN SEB	SS-Ab	E1067	0	0	0	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0	0,5	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0,75	0	0	0	1	0
ene/18	MOMIL	MM-Ab	E2068	0	0	0	0,75	0,5	0,75	0,75	0	0,75	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0,75	0
ene/18	MOMIL	MM-Ab	E2069	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0,25	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,25
ene/18	MOMIL	MM-Ab	E2070	0	0	0	0,25	0	0,5	0	0	0,25	0	0,25	0	0	0	0,75	0,75	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0
ene/18	MOMIL	MM-Ab	E2071	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0,75	0	0	0,5	0	0,75	0	0	0	0,75	0,25
ene/18	MOMIL	MM-Ab	E2072	0	0	0	0,25	0	0,25	0,25	0,25	0	0,5	0	0	0	0	1	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0
ene/18	MOMIL	MM-Ab	E2073	0	0	0	0	0	0	0,5	0,75	0	1	0	0,75	0,75	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,5	0	0
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1074	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0,75	0	0,5	0,5	1	0	0	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,5	0
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1075	0	0	0	0	1	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0	0	0,75	0	0	0,75	0	0,5	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0,75
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1076	0	0	0	0	0	0	0,75	0,75	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1077	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	1	0	0	0,5	0	0	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1078	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	1	0	0	0	0,75	0	0	0,75	0	1	0	0	0	0	0	0,25	0,5	0,75
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1079	0	0	0	0,75	0	0,75	0	0	0,75	0	0,75	0	0	0	0,75	0,75	0	0	0,5	0	0	0	0	0,75	0	1	0

FECHA DE MUESTREO	ESTACIÓN	ESTACUÓN régimen hidrologico	MUESTRA	Branquias												Hígado																				
				Lesiones inespecificas						Lesiones especificas						Lesiones inespecificas						Lesiones especificas														
				B-DegFiam	B-Hipplasia	B-Inflam	B-Hemorr	B-PerCitop	B-Necrosis	B-HippiCellFiam	B-AtroLam	B-PerfnLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinucl	H-Hemorr	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuclPicn	H-HepAnucl	H-Inflam	H-Infiltrac	H-Cariorr	H-Hipetrof	H-NuclPromi						
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1080	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,75	0	0	0	1	0,75	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1081	0	0	0	1	0	0,75	0,25	0,75	0,25	0,75	0	0	0	1	0,75	0,75	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1082	0,25	0,5	0	0	0	0,25	0,5	0,25	0	0,25	0,5	0,5	0,5	0	0,75	0	0	0	1	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
feb/18	SAN SEB	SS-Ab	E1083	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,75	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0,25	0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2084	0	0	0	0,75	0	0,25	0,5	1	0,75	0,5	0	0,75	0,75	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2085	0	0,25	0	0,25	0	0	0,75	0,25	0	0	0,5	0,5	0,5	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2086	0	0	0	0	0	0	0,5	0,25	0	1	0	0	0	0,75	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0,25	
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2087	0	0	0	0	0	0	0,5	1	0	1	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0,25	0,25	0,25
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2088	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,75	0	0	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2089	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0,5	0	1	0	0	0	0,5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2090	0	0	0	0,25	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0,5	0,5
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2091	0	0	0	0,25	0,25	0,75	0	0,5	0,5	0	0	0	0	0	1	0	0,75	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0,25	0,25
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2092	0	0	0	0,75	0	1	0,75	0	0,75	0	1	0	0	0,75	0	0,75	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75
feb/18	MOMIL	MM-Ab	E2093	0	0	0	0,75	0	0,75	0,75	0,5	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1094	0	0	0	0,25	0,25	0,5	0	1	0,5	0,25	0,25	0	0	0	0	0	0,75	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1095	0	0	0	0,75	0,5	0,5	0,75	0,25	0,75	0	1	1	1	0	1	1	0,75	0,75	0	0,75	0	0	0	0,75	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0

FECHA DE MUESTREO	ESTACIÓN	ESTACUÓN régimen hidrologico	MUESTRA	Branquias												Hígado														
				Lesiones inespecificas						Lesiones especificas						Lesiones inespecificas						Lesiones especificas								
				B-DegFiam	B-Hipplasia	B-Inflam	B-Hemorr	B-PerCitop	B-Necrosis	B-HippiCellFiam	B-AtroLam	B-PerfnLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinuci	H-Hemorr	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuciPicn	H-HepAnuci	H-Inflam	H-Infiltrac	H-Cariorr	H-Hipetrof	H-NuciPromi
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1096	0	0	0	0,5	0,25	1	0	0,25	0,25	1	0	0,5	0,5	1	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0	
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1097	0	0	0	1	0	0,5	0,5	0,5	0	0,75	0	0,75	0,75	0,75	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0,75	0	
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1098	0	0	0	0	0	0	0,75	0	0,5	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1099	0	0	0	0	0	0	0,75	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	0	
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1100	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0,5	0,75	1	0	0,75	0,75	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,75	0	
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1101	0	0	0	0	0	0	0,75	1	0,5	0	1	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1102	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	
mar/18	SAN SEB	SS-Ab	E1103	0	0	0,5	0,5	0	0	0,75	0	0,75	0	0	0	0	0,5	0	0,75	0	0,75	0	0	0,75	0	0	0,75	0	1	0
mar/18	MOMIL	MM-Ab	E2104	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0,75	1	0	0	0,75	0	0,75	0	0	0	0	0,75	0,25	
mar/18	MOMIL	MM-Ab	E2105	0	0	0	0,75	0,75	0,75	0	0,75	0,75	0,75	0	0	0	0	0	0,75	1	0,75	1	0	0	0	1	0	0,75	0,25	
mar/18	MOMIL	MM-Ab	E2106	0	0	0	0	0	1	0	0	0,5	0,75	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	
mar/18	MOMIL	MM-Ab	E2107	0	0	0	0,75	1	0,75	0	0	0,75	0	0,5	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,75	0	0	0,5	
mar/18	MOMIL	MM-Ab	E2108	0	0	0	0,5	0,5	0,75	0,5	0,5	0	0,75	0,75	0,25	0,25	0,25	0,5	0,75	0	0,75	0	0,5	0	0	0	0,75	0	0,25	
mar/18	MOMIL	MM-Ab	E2109	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	
mar/18	MOMIL	MM-Ab	E2110	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0,75	0,75	0	0,75	0,75	0,5	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0,25	0	0,5	
mar/18	MOMIL	MM-Ab	E2111	0	0	0	0	0	0	0,5	0,25	0,75	0	0,5	0,75	0,75	1	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	

FECHA DE MUESTREO	ESTACIÓN	ESTACIÓN régimen hidrológico	MUESTRA	Branquias											Hígado																
				Lesiones inespecíficas							Lesiones específicas				Lesiones inespecíficas						Lesiones específicas										
				B-DegFilam	B-Hipplasia	B-Inflam	B-Hemorr	B-PerCitop	B-Necrosis	B-HippiCellFilam	B-Atroflam	B-PerflLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinucl	H-Hemorr	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuclPicn	H-HepAnucl	H-Inflam	H-Infiltrac	H-Cariorr	H-Hipetrof	H-NuclPromi	
mar/18	MOMIL	MM- Ab	E211 2	0	0	0	0	0	0	0,75	0,75	0,75	1	0	0	0	0	0	0,75	0	0,5	0	1	0	0	0	0	0	0	0,75	0,5
mar/18	MOMIL	MM- Ab	E211 3	0	0,5	0,5	0,25	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0	0	1	0,5	1	0	0	0,75	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 3. Variables físicas y químicas de la Ciénaga de San Sebastián y la Ciénaga de Momil CCBS durante septiembre de 2017 y marzo de 2018.

Estación San Sebastián					
Variable	Temperatura (°C)	Transparencia (cm)	Conductividad ($\mu\text{s.cm}^{-1}$)	Oxígeno (mg.L ⁻¹)	pH
sep-17	29,7	120	183	0,33	6,67
oct-17	30,0	150	219	0,27	6,69
nov-17	28,2	55	438	4,51	6,8
ene-18	30,4	25	270	1,93	6,39
feb-18	29,1	20	572	1	7,55
mar-18	30,8	15	582	8,1	7,8

Estación Momil					
Variable	Temperatura (°C)	Transparencia (cm)	Conductividad ($\mu\text{s.cm}^{-1}$)	Oxígeno (mg.L ⁻¹)	pH
sep-17	31,8	75	251	6,68	6,92
oct-17	30,8	90	265	6,88	6,9
nov-17	30,4	73	307	6,84	6,93
ene-18	32,1	52	369	2,93	7,5
feb-18	30,5	25	431	6,22	7,71
mar-18	31,5	13	485	7,96	7,33

ANEXO 4. Estadística descriptiva de las variables físicas y químicas, a. Ciénaga de San Sebastián; b. Ciénaga de Momil.

a. Ciénaga de San Sebastián

Estadístico	Temperatura (°C)	Transparencia (cm)	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/l)	pH
No. de observaciones	6	6	6	6	6
Mínimo	28,200	15,000	183,000	0,270	6,390
Máximo	30,800	150,000	582,000	8,100	7,800
1° Cuartil	29,250	21,250	231,750	0,498	6,675
Mediana	29,850	40,000	354,000	1,465	6,745
3° Cuartil	30,300	103,750	538,500	3,865	7,363
Media	29,700	64,167	377,333	2,690	6,983
Varianza (n-1)	0,880	3294,167	31563,867	9,488	0,312
Desviación típica (n-1)	0,938	57,395	177,662	3,080	0,558

b. Ciénaga de Momil.

Estadístico	Temperatura (°C)	Transparencia (cm)	Conductividad (µs/cm)	Oxígeno (mg/l)	pH
No. de observaciones	6	6	6	6	6
Mínimo	30,400	13,000	251,000	2,930	6,900
Máximo	32,100	90,000	485,000	7,960	7,710
1° Cuartil	30,575	31,750	275,500	6,335	6,923
Mediana	31,150	62,500	338,000	6,760	7,130
3° Cuartil	31,725	74,500	415,500	6,870	7,458
Media	31,183	54,667	351,333	6,252	7,215
Varianza (n-1)	0,510	924,267	8802,267	2,975	0,121
Desviación típica (n-1)	0,714	30,402	93,820	1,725	0,348

ANEXO 5. Análisis de Componentes Principales (ACP) entre las variables físicas y químicas con las variables biológicas (cambios histológicos asociados con MC's).

ANEXO 5.1. Estadísticos descriptivos (Datos cuantitativos):

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
T(°C)	113	0	113	28,200	32,100	30,314	1,055
Transparencia (cm)	113	0	113	13,000	150,000	61,615	42,339
OD (mg/l)	113	0	113	0,270	7,960	4,019	2,838
pH	113	0	113	6,390	7,710	7,048	0,388
Conductividad (µs/cm)	113	0	113	183,000	572,000	353,73	9
B-AtrofLam	113	0	113	0,000	1,000	0,347	0,357
B-PerfnLam	113	0	113	0,000	1,000	0,252	0,300
B-Hiperhem	113	0	113	0,000	1,000	0,341	0,417
B-FusLam	113	0	113	0,000	1,000	0,268	0,373
B-DegLam	113	0	113	0,000	1,000	0,181	0,296
B-Telange	113	0	113	0,000	1,000	0,186	0,304
H-DegPlum	113	0	113	0,000	1,000	0,420	0,427
H-Necrosis	113	0	113	0,000	1,000	0,228	0,376
H-Vacuol	113	0	113	0,000	1,000	0,206	0,336
H-HepatBinucl	113	0	113	0,000	1,000	0,181	0,308
H-Hemorr	113	0	113	0,000	1,000	0,168	0,309
H-DilatSinus	113	0	113	0,000	1,000	0,153	0,301
H-Turg	113	0	113	0,000	1,000	0,139	0,304
H-NuclPicn	113	0	113	0,000	1,000	0,044	0,190

ANEXO 5.2. Estadísticos descriptivos (Datos cualitativos):

Variable	Categorías	Cuentas	Frecuencias	%
EST-Rh	SS-Aa	30	30	26,549
	MM-Aa	30	30	26,549
	SS-Ab	27	27	23,894
	MM-Ab	26	26	23,009

ANEXO 5.3. Matriz de correlaciones (Spearman (n)) entre Variables F-Q y las variables biológicas (alteraciones histológicas asociadas a MC's)

Variables	T(°C)	Transparencia (cm)	OD (mg/l)	pH	Conductividad (µs/cm)	B-AtrofLam	B-PerfnLam	B-Hiperhem	B-FusLam	B-DegLam	B-Telange	H-DegPlum	H-Necrosis	H-Vacuol	H-HepatBinucl	H-Hemorr	H-DilatSinus	H-Turg	H-NuclPicn
T(°C)	1	-0,038	0,618	0,311	-0,125	-0,066	0,065	0,144	-0,014	0,047	0,044	-0,049	0,071	0,105	0,068	0,224	-0,268	0,178	0,005
Transparencia (cm)	-0,038	1	-0,251	-0,650	-0,878	-0,116	-0,179	-0,191	0,018	-0,070	-0,059	-0,135	-0,102	0,065	-0,298	0,011	-0,244	-0,261	0,111
OD (mg/l)	0,618	-0,251	1	0,315	0,267	-0,083	0,098	0,118	-0,129	0,111	0,100	0,001	0,129	0,029	0,122	0,189	-0,016	0,160	-0,050
pH	0,311	-0,650	0,315	1	0,696	0,038	0,107	0,104	-0,078	0,094	0,086	0,013	0,118	0,035	0,232	0,048	0,107	0,106	-0,011
Conductividad (µs/cm)	-0,125	-0,878	0,267	0,696	1	0,013	0,164	0,103	-0,115	0,096	0,087	0,098	0,091	-0,053	0,227	-0,023	0,383	0,145	-0,094
B-AtrofLam	-0,066	-0,116	-0,083	0,038	0,013	1	0,123	0,235	0,159	0,083	0,085	0,179	-0,082	-0,140	0,105	0,005	0,000	0,109	-0,119
B-PerfnLam	0,065	-0,179	0,098	0,107	0,164	0,123	1	-0,034	0,130	0,162	0,154	-0,030	-0,041	0,125	0,076	0,163	-0,102	0,118	0,072
B-Hiperhem	0,144	-0,191	0,118	0,104	0,103	0,235	-0,034	1	-0,377	0,232	0,224	0,255	-0,166	-0,024	0,097	0,030	0,082	0,046	-0,111
B-FusLam	-0,014	0,018	-0,129	-0,078	-0,115	0,159	0,130	-0,377	1	-0,092	-0,082	0,007	0,112	0,074	-0,089	0,079	-0,106	0,208	-0,185
B-DegLam	0,047	-0,070	0,111	0,094	0,096	0,083	0,162	0,232	-0,092	1	0,998	0,165	0,067	-0,028	0,094	0,077	0,034	0,060	-0,161
B-Telange	0,044	-0,059	0,100	0,086	0,087	0,085	0,154	0,224	-0,082	0,998	1	0,157	0,064	-0,031	0,089	0,083	0,030	0,058	-0,161
H-DegPlum	-0,049	-0,135	0,001	0,013	0,098	0,179	-0,030	0,255	0,007	0,165	0,157	1	-0,302	-0,079	-0,005	-0,209	0,290	-0,006	-0,146
H-Necrosis	0,071	-0,102	0,129	0,118	0,091	-0,082	-0,041	-0,166	0,112	0,067	0,064	-0,302	1	0,206	0,089	0,097	-0,003	0,204	-0,065
H-Vacuol	0,105	0,065	0,029	0,035	-0,053	-0,140	0,125	-0,024	0,074	-0,028	-0,031	-0,079	0,206	1	-0,027	0,207	0,076	0,345	-0,002
H-HepatBinucl	0,068	-0,298	0,122	0,232	0,227	0,105	0,076	0,097	-0,089	0,094	0,089	-0,005	0,089	-0,027	1	0,013	-0,035	0,125	-0,058
H-Hemorr	0,224	0,011	0,189	0,048	-0,023	0,005	0,163	0,030	0,079	0,077	0,083	-0,209	0,097	0,207	0,013	1	-0,123	0,254	-0,040
H-DilatSinus	-0,268	-0,244	-0,016	0,107	0,383	0,000	-0,102	0,082	-0,106	0,034	0,030	0,290	-0,003	0,076	-0,035	-0,123	1	0,182	-0,128
H-Turg	0,178	-0,261	0,160	0,106	0,145	0,109	0,118	0,046	0,208	0,060	0,058	-0,006	0,204	0,345	0,125	0,254	0,182	1	-0,112
H-NuclPicn	0,005	0,111	-0,050	-0,011	-0,094	-0,119	0,072	-0,111	-0,185	-0,161	-0,161	-0,146	-0,065	-0,002	-0,058	-0,040	-0,128	-0,112	1

Los valores en negrita son diferentes de 0 con un nivel de significación $\alpha=0,05$

ANEXO 5.4. Prueba de esf. de Bartlett:

Chi-cuadrado (Valor observado)	386,461
Chi-cuadrado (Valor crítico)	18,307
GL	10
valor-p (bilateral)	<
alfa	0,05

Interpretación de la prueba:

H0: No hay ninguna correlación significativamente diferente de 0 entre las variables.

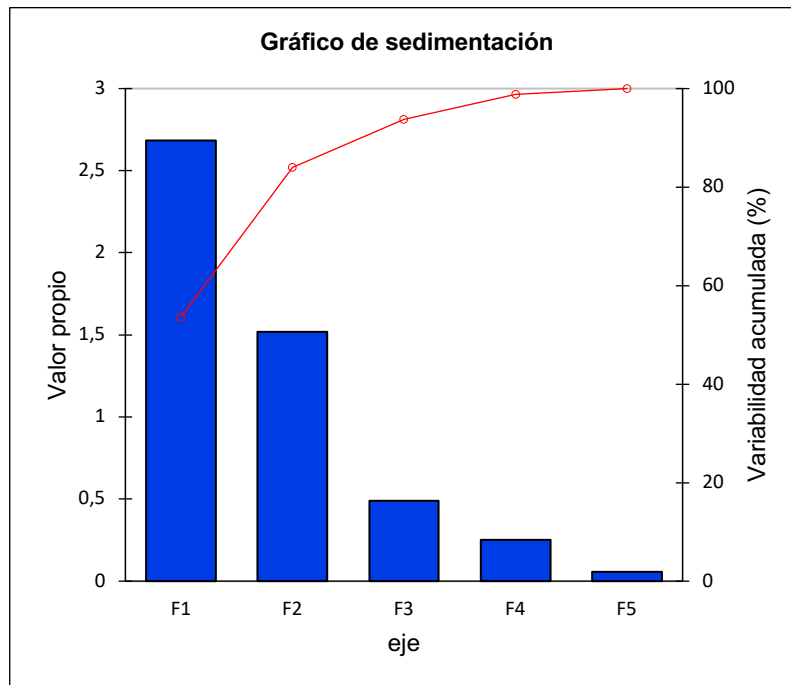
Ha: Al menos una de las correlaciones entre las variables es significativamente diferente de 0.

Puesto que el valor-p computado es menor que el nivel de significación $\alpha=0,05$, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

ANEXO 5.5. Análisis de Componentes Principales (ACP):

Valores propios:

	F1	F2	F3	F4	F5
Valor propio	2,684	1,518	0,488	0,252	0,059
Variabilidad (%)	53,683	30,358	9,753	5,033	1,173
% acumulado	53,683	84,041	93,794	98,827	100,000



Vectores propios:

	F1	F2	F3	F4	F5
T(°C)	-0,192	0,717	-0,367	-0,429	0,360
Transparencia (cm)	0,537	0,258	-0,107	0,659	0,448
OD (mg/l)	-0,334	0,553	0,652	0,320	-0,233
pH	-0,526	-0,008	-0,615	0,519	-0,275
Conductividad (µs/cm)	-0,536	-0,336	0,222	0,104	0,735

Cargas factoriales:

	F1	F2	F3	F4	F5
T(°C)	-0,315	0,884	-0,256	-0,215	0,087
Transparencia (cm)	0,879	0,318	-0,075	0,330	0,108
OD (mg/l)	-0,547	0,681	0,456	0,161	-0,057
pH	-0,862	-0,010	-0,430	0,260	-0,067
Conductividad (µs/cm)	-0,878	-0,414	0,155	0,052	0,178
B-AtrofLam	-0,030	-0,104	-0,055	-0,106	-0,235
B-PerfnLam	-0,174	-0,001	0,043	-0,083	0,047
B-Hiperhem	-0,171	0,069	0,005	-0,169	-0,057
B-FusLam	0,097	-0,031	-0,084	-0,152	-0,123
B-DegLam	-0,113	0,036	0,037	0,057	0,019
B-Telange	-0,101	0,034	0,032	0,056	0,026
H-DegPlum	-0,075	-0,083	0,067	-0,100	-0,042
H-Necrosis	-0,135	0,053	0,024	0,028	-0,064
H-Vacuol	0,009	0,102	-0,086	0,039	0,047
H-HepatBinucl	-0,279	-0,031	-0,009	-0,085	-0,141
H-Hemorr	-0,069	0,224	0,007	-0,012	0,048
H-DilatSinus	-0,205	-0,320	0,191	0,090	0,206
H-Turg	-0,220	0,081	0,048	-0,253	-0,052
H-NudPicn	0,080	0,029	-0,087	0,079	-0,013

Los resultados que corresponden a las variables suplementarias se muestran en la segunda parte de la tabla

ANEXO 5.6. Correlaciones entre las variables dependientes (lesiones) y los factores (F):

	F1	F2	F3	F4	F5
T(°C)	-0,315	0,884	-0,256	-0,215	0,087
Transparencia (cm)	0,879	0,318	-0,075	0,330	0,108
OD (mg/l)	-0,547	0,681	0,456	0,161	-0,057
pH	-0,862	-0,010	-0,430	0,260	-0,067
Conductividad (µs/cm)	-0,878	-0,414	0,155	0,052	0,178
B-AtrofLam	-0,030	-0,104	-0,055	-0,106	-0,235
B-PerfnLam	-0,174	-0,001	0,043	-0,083	0,047
B-Hiperhem	-0,171	0,069	0,005	-0,169	-0,057
B-FusLam	0,097	-0,031	-0,084	-0,152	-0,123
B-DegLam	-0,113	0,036	0,037	0,057	0,019
B-Telange	-0,101	0,034	0,032	0,056	0,026
H-DegPlum	-0,075	-0,083	0,067	-0,100	-0,042
H-Necrosis	-0,135	0,053	0,024	0,028	-0,064
H-Vacuol	0,009	0,102	-0,086	0,039	0,047
H-HepatBinucl	-0,279	-0,031	-0,009	-0,085	-0,141
H-Hemorr	-0,069	0,224	0,007	-0,012	0,048
H-DilatSinus	-0,205	-0,320	0,191	0,090	0,206
H-Turg	-0,220	0,081	0,048	-0,253	-0,052
H-NuclPicn	0,080	0,029	-0,087	0,079	-0,013

Los resultados que corresponden a las variables suplementarias se muestran en la segunda parte de la tabla

Contribuciones de las variables (%):

	F1	F2	F3	F4	F5
T(°C)	3,686	51,480	13,489	18,391	12,954
Transparencia (cm)	28,786	6,643	1,148	43,375	20,048
OD (mg/l)	11,141	30,594	42,565	10,256	5,444
pH	27,687	0,006	37,862	26,888	7,557
Conductividad (µs/cm)	28,700	11,277	4,936	1,090	53,997

Puntuaciones factoriales del ACP:

	F1	F2	F3	F4	F5
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266

Puntuaciones factoriales del ACP:

	F1	F2	F3	F4	F5
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
SS-Aa	2,869	-0,530	-0,122	-0,028	-0,266
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
MM-Aa	0,458	1,869	-0,284	-0,126	-0,027
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
SS-Aa	2,709	-0,351	-0,669	0,044	0,273
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
MM-Aa	0,533	1,745	0,569	0,410	0,056
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291

Puntuaciones factoriales del ACP:

	F1	F2	F3	F4	F5
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
SS-Aa	0,242	-1,389	1,267	0,425	0,291
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
MM-Aa	-0,143	0,650	0,470	0,630	-0,227
SS-Ab	0,897	-0,314	0,676	-1,459	-0,031
SS-Ab	0,897	-0,314	0,676	-1,459	-0,031
SS-Ab	0,897	-0,314	0,676	-1,459	-0,031
SS-Ab	0,897	-0,314	0,676	-1,459	-0,031
SS-Ab	0,897	-0,314	0,676	-1,459	-0,031
SS-Ab	0,897	-0,314	0,676	-1,459	-0,031
SS-Ab	0,897	-0,314	0,676	-1,459	-0,031
SS-Ab	0,897	-0,314	0,676	-1,459	-0,031
MM-Ab	-1,015	0,975	-1,392	-0,300	0,316
MM-Ab	-1,015	0,975	-1,392	-0,300	0,316
MM-Ab	-1,015	0,975	-1,392	-0,300	0,316
MM-Ab	-1,015	0,975	-1,392	-0,300	0,316
MM-Ab	-1,015	0,975	-1,392	-0,300	0,316
MM-Ab	-1,015	0,975	-1,392	-0,300	0,316
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
SS-Ab	-1,566	-2,324	-0,376	0,153	0,044
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252

Puntuaciones factoriales del ACP:

	F1	F2	F3	F4	F5
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
MM-Ab	-1,679	0,101	-0,692	0,405	-0,252
SS-Ab	-0,565	-1,268	-0,290	-0,336	-0,438
SS-Ab	-0,565	-1,268	-0,290	-0,336	-0,438
SS-Ab	-0,565	-1,268	-0,290	-0,336	-0,438
SS-Ab	-0,565	-1,268	-0,290	-0,336	-0,438
SS-Ab	-0,565	-1,268	-0,290	-0,336	-0,438
SS-Ab	-0,565	-1,268	-0,290	-0,336	-0,438
SS-Ab	-0,565	-1,268	-0,290	-0,336	-0,438
SS-Ab	-1,358	-0,225	-0,862	0,121	0,616
SS-Ab	-1,358	-0,225	-0,862	0,121	0,616
SS-Ab	-1,358	-0,225	-0,862	0,121	0,616
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
MM-Ab	-2,639	0,818	0,659	-0,513	0,061
EST-Rh-SS-Aa	-1,280	-3,437	1,512	0,775	6,265
EST-Rh-MM-Aa	-1,731	-3,484	1,648	0,200	5,717
EST-Rh-SS-Ab	-5,375	-5,789	2,890	-0,419	8,792
EST-Rh-MM-Ab	-5,295	-5,594	2,909	-0,346	8,680

Los resultados que corresponden a los centroides de las categorías se muestran en la parte inferior de la tabla

Contribuciones de las observaciones (%) en el ACP:

	F1	F2	F3	F4	F5
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068

Contribuciones de las observaciones (%) en el ACP:

	F1	F2	F3	F4	F5
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
SS-Aa	2,713	0,164	0,027	0,003	1,068
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
MM-Aa	0,069	2,035	0,146	0,056	0,011
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
SS-Aa	2,420	0,072	0,812	0,007	1,128
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
MM-Aa	0,094	1,776	0,587	0,592	0,047
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276

Contribuciones de las observaciones (%) en el ACP:

	F1	F2	F3	F4	F5
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
SS-Aa	0,019	1,125	2,914	0,636	1,276
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
MM-Aa	0,007	0,247	0,402	1,397	0,777
SS-Ab	0,265	0,057	0,829	7,488	0,014
SS-Ab	0,265	0,057	0,829	7,488	0,014
SS-Ab	0,265	0,057	0,829	7,488	0,014
SS-Ab	0,265	0,057	0,829	7,488	0,014
SS-Ab	0,265	0,057	0,829	7,488	0,014
SS-Ab	0,265	0,057	0,829	7,488	0,014
SS-Ab	0,265	0,057	0,829	7,488	0,014
SS-Ab	0,265	0,057	0,829	7,488	0,014
MM-Ab	0,340	0,554	3,516	0,316	1,504
MM-Ab	0,340	0,554	3,516	0,316	1,504
MM-Ab	0,340	0,554	3,516	0,316	1,504
MM-Ab	0,340	0,554	3,516	0,316	1,504
MM-Ab	0,340	0,554	3,516	0,316	1,504
MM-Ab	0,340	0,554	3,516	0,316	1,504
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030

Contribuciones de las observaciones (%) en el ACP:

	F1	F2	F3	F4	F5
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
SS-Ab	0,808	3,148	0,256	0,082	0,030
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
MM-Ab	0,930	0,006	0,868	0,576	0,956
SS-Ab	0,105	0,938	0,152	0,398	2,889
SS-Ab	0,105	0,938	0,152	0,398	2,889
SS-Ab	0,105	0,938	0,152	0,398	2,889
SS-Ab	0,105	0,938	0,152	0,398	2,889
SS-Ab	0,105	0,938	0,152	0,398	2,889
SS-Ab	0,105	0,938	0,152	0,398	2,889
SS-Ab	0,105	0,938	0,152	0,398	2,889
SS-Ab	0,608	0,030	1,348	0,052	5,717
SS-Ab	0,608	0,030	1,348	0,052	5,717
SS-Ab	0,608	0,030	1,348	0,052	5,717
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056
MM-Ab	2,295	0,390	0,788	0,927	0,056