



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

CL50 DE SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO EN *MULINIA* SP. Y
SU EFECTO EN LA SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE
LITOPENAEUS VANNAMEI

LOAIZA CARDENAS JAIME ANDRES
INGENIERO ACUÍCULTOR

MACHALA
2019



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

CL50 DE SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO EN *Mulinia*
sp. Y SU EFECTO EN LA SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE
Litopenaeus vannamei

LOAIZA CARDENAS JAIME ANDRES
INGENIERO ACUÍCULTOR

MACHALA
2019



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

CL50 DE SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO EN *Mulinia* sp. Y SU EFECTO
EN LA SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE *Litopenaeus vannamei*

LOAIZA CARDENAS JAIME ANDRES
INGENIERO ACUÍCULTOR

SOLANO MOTOCHÉ GALO WILFRIDO

MACHALA, 17 DE SEPTIEMBRE DE 2019

MACHALA
2019

Nota de aceptación:

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado CL50 DE SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO EN *Mulinia* sp. Y SU EFECTO EN LA SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE *Litopenaeus vannamei*, hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.



SOLANO MOTOCHÉ GALO WILFRIDO
0703062083
TUTOR - ESPECIALISTA 1



SORROZA OCHOA LITA SCARLETT
0702681040
ESPECIALISTA 2



QUIZHPE CORDERO PATRICIO FREDY
0701801979
ESPECIALISTA 3

Machala, 17 de septiembre de 2019

Tesis

INFORME DE ORIGINALIDAD

0%

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE
INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.sach.cl

Fuente de Internet

<1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 5 words

Excluir bibliografía

Activo

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, LOAIZA CARDENAS JAIME ANDRES, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado CL50 DE SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO EN *Mulinia* sp. Y SU EFECTO EN LA SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE *Litopenaeus vannamei*, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

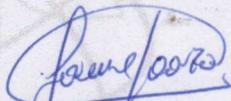
El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 17 de septiembre de 2019


LOAIZA CARDENAS JAIME ANDRES
0705049096

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi agradecimiento a:

Dios por ser quien nos da la vida y la fortaleza de seguir hacia adelante y superar cada barrera en nuestro camino.

A mi madre y mi familia por haberme brindado su apoyo durante el desarrollo de mi carrera universitaria.

A mi tutor de tesis por haber prestado sus conocimientos y su apoyo para la culminación de la carrera y del presente trabajo de titulación.

A los docentes y directivos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias que han sido parte de mi desarrollo académico y me han permitido culminar con éxito esta etapa.

Y a mis compañeros, ya que junto a ellos hemos podido salir adelante, nos hemos brindado ayuda durante todos los periodos académicos hasta el final de la carrera.

Muchas gracias.

DEDICATORIA

Después de haber culminado con el presente trabajo de titulación, se lo dedico a Dios por ser quien nos guía, a mi madre Francis y hermanos Michael e Isabel por el apoyo y el cariño que siempre me han brindado.

A mi abuelo Luis Francisco (†) quien dejó a la familia las mejores enseñanzas y experiencias. A mi abuela Isabel quien ha sido parte de mi formación como profesional, a mis tíos Tanya, Luis, Jimmy, Juan Manuel Loaiza por haber sido pilares fundamentales en el desarrollo de mi carrera y a mis primos por todo el apoyo y cariño brindado durante todos estos años.

Jaime Andrés Loaiza Cárdenas

RESUMEN

CL₅₀ DE SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO EN *Mulinia* sp. Y SU EFECTO EN LA SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE *Litopenaeus vannamei*

AUTOR: JAIME ANDRÉS LOAIZA CÁRDENAS

TUTOR: GALO WILFRIDO SOLANO MOTOCHÉ, M.Sc.

La producción camaronera ecuatoriana no está exenta de problemas como la proliferación de organismos considerados como fauna nociva. Dentro de estos podemos mencionar a los moluscos bivalvos como mejillones y almejas, los mismos que pueden generar perjuicios al cultivo por competencia en espacio, oxígeno, alcalinidad y dureza totales, y alimento. Estos moluscos ingresan y proliferan en los estanques una vez que han encontrado las condiciones adecuadas para completar su ciclo de vida, por lo que se debe actuar de la mejor manera para controlarlos. En el caso de las granjas camaroneras de la provincia de El Oro, desde el año 2013 se ha reportado la presencia de la almeja *Mulinia* sp., la misma que es muy difícil de erradicar. Para controlarla se utiliza SO₄Cu.5H₂O, sin embargo, el desconocimiento de la concentración letal de este químico en esta especie es uno de los mayores problemas para su uso. Por tal motivo, surgió la necesidad de realizar un estudio de Concentración Letal Media (CL₅₀) de SO₄Cu.5H₂O en *Mulinia* sp., con el objetivo de brindar al sector camaronero afectado por estos moluscos bivalvos la concentración de este químico que logre su total eliminación y, además, que no influya de manera negativa en la supervivencia durante el cultivo de camarones *Litopenaeus vannamei*. En el presente trabajo se realizaron dos experimentos. El primero, un bioensayo de toxicidad aguda del tipo estático sin renovación, se efectuó para determinar los valores de CL₅₀ de SO₄Cu.5H₂O en *Mulinia* sp. a las 24, 48 y 72 horas. Sesenta almejas con una longitud de concha promedio de 8,81 ± 1,02 mm, fueron divididas en 12 acuarios de 6 l. Se probaron cuatro concentraciones, 0, 0,50, 0,80 y 1,00 mg/l de SO₄Cu.5H₂O (0, 0,32, 0,51 y 0,64 mg/l como SO₄Cu o 0, 0,13, 0,20 y 0,25 mg/l como Cu). Cada concentración tuvo tres réplicas. El número de bivalvos muertos fue contabilizado a las 24, 48 y 72 horas. Se utilizó el método Finney Probit Analysis para el procesamiento de los resultados, transformando las concentraciones de SO₄Cu.5H₂O a su equivalente como SO₄Cu. Los valores de CL₅₀ de SO₄Cu.5H₂O a las 24 y 48 horas fueron de 0,39 mg/l (0,25

mg/l de SO_4Cu o 0,10 mg/l de Cu) y 0,37 mg/l (0,24 mg/l de SO_4Cu o 0,09 mg/l de Cu), respectivamente. Después de 72 horas de exposición, las concentraciones de 0,8 y 1,0 mg/l provocaron el 100% de mortalidad, por lo cual no se pudo determinar la CL_{50} en este tiempo. El segundo experimento, también estático y sin renovación, se realizó con el fin de evaluar el efecto de las concentraciones y los tiempos probados anteriormente en la supervivencia de postlarvas de *L. vannamei* con una talla promedio de $19,0 \pm 1,7$ mm. No se observó mortalidad en todas las concentraciones evaluadas durante las primeras 24 horas, no así a las 48 horas, en la que 1,0 mg/l produjo el 3% de mortalidad. Finalmente, en base a estos resultados, se pudo concluir que 0,8 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ puede utilizarse durante 72 horas si se desea eliminar totalmente a los bivalvos de la especie *Mulinia* sp. sin afectar la supervivencia de postlarvas de *L. vannamei*. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que existen parámetros de calidad de agua que afectan la toxicidad del SO_4Cu . En estos experimentos la alcalinidad total y la salinidad del agua fueron 135 mg/l CO_3Ca y 35 UPS, respectivamente. Por lo que se plantea la necesidad de realizar estudios posteriores con la finalidad de cuantificar la influencia de estas variables químicas sobre el efecto de este químico en la eliminación de *Mulinia* sp.

Palabras clave: *Mulinia* sp., *Litopenaeus vannamei*, sulfato de cobre, concentración letal media, concentración letal 50, CL_{50}

ABSTRACT

LC₅₀ FOR COPPER SULPHATE PENTAHYDRATE IN *Mulinia* sp. AND ITS EFFECT ON THE SURVIVAL OF *Litopenaeus vannamei* POSTLARVAE

AUTOR: JAIME ANDRÉS LOAIZA CÁRDENAS

TUTOR: GALO WILFRIDO SOLANO MOTOCHÉ, M.Sc.

Ecuadorian shrimp production is not exempt from problems such as the proliferation of organisms considered harmful fauna. These include bivalve molluscs such as mussels and clams, which can cause damage to the crop due to competition in space, oxygen, alkalinity and total hardness, and food. These molluscs enter and proliferate in the ponds once they have found the right conditions to complete their life cycle, so it is important act in the best way to control them. In the case of shrimp farms in the province of El Oro, since 2013 has been reported the presence of the clam *Mulinia* sp., which is very difficult to eradicate. CuSO₄.5H₂O is for controlling; however, the lack of information about the lethal concentration for this chemical in this species is one of the principal problems. For this reason, we believed necessary to carry out a Median Lethal Concentration (LC₅₀) of CuSO₄.5H₂O in *Mulinia* sp., which one providing information at the shrimp producers affected the concentration of this chemical for total elimination and without negatively influence the survival of shrimp *Litopenaeus vannamei* in the ponds. Two experiments were developed. The first, an acute toxicity bioassay of static type without renewal, for determining the LC₅₀ values of CuSO₄.5H₂O in *Mulinia* sp. at 24, 48 and 72 hours. Sixty clams (average shell length of 8.81 ± 1.02 mm) were divided into 12 aquariums. Four concentrations, 0, 0,50, 0,80 and 1,00 mg/l of CuSO₄.5H₂O (0, 0,32, 0,51 and 0,64 mg/l as CuSO₄ or 0, 0,13, 0,20 and 0,25 mg/l as Cu) were tested. Each concentration had three replicates. The number of dead bivalves was counted at 24, 48 and 72 hours. The Finney Probit Analysis was used to process the results, transforming the concentrations of CuSO₄.5H₂O to its equivalent as CuSO₄. The LC₅₀ values of CuSO₄.5H₂O at 24 and 48 hours were 0.39 mg/l (0.25 mg/l CuSO₄ or 0.10 mg/l Cu) and 0.37 mg/l (0.24 mg/l CuSO₄ or 0.09 mg/l Cu), respectively. After 72 hours of exposure, the concentrations of 0.8 and 1.0 mg/l caused 100% mortality, so that LC₅₀ could not be determined at this time. The second experiment, also static and without renewal, was performed for evaluating the concentrations and times previously tested on the survival of *L. vannamei* postlarvae with

an average length of 19.0 ± 1.7 mm. Mortality was not observed in all the concentrations evaluated during the first 24 hours, but not at 48 hours, in which 1.0 mg/l produced 3% mortality. Finally, based on these results, it could be concluded that 0.8 mg/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ can be used for 72 hours if it is desired to completely eliminate the bivalves of the species *Mulinia* sp. without affecting the survival of *L. vannamei* postlarvae. However, it is important to know that some water quality parameters affect the toxicity of CuSO_4 . In these experiments, the total alkalinity and salinity of the water were 135 mg/l CaCO_3 and 35 PSU, respectively. It is therefore necessary to carry out further studies in order to quantify the influence of these variables on the effect of this chemical on the elimination of *Mulinia* sp.

Keywords: *Mulinia* sp., *Litopenaeus vannamei*, copper sulphate, median lethal concentration, lethal concentration 50, LC_{50}

INDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	3
4. OBJETIVOS.....	4
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
4.2. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	4
5. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
5.1. CULTIVO DE CAMARÓN EN EL ECUADOR	5
5.2. <i>MULINIA</i> SP.	5
5.3. SO ₄ CU.....	7
5.4. TOXICIDAD DEL SO ₄ CU.....	8
5.4.1. <i>Mecanismos de acción del Cu en moluscos bivalvos y crustáceos</i>	9
5.4.2. <i>Factores que influyen en la toxicidad del SO₄Cu</i>	10
5.5. CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL ₅₀)	10
5.6. ANÁLISIS PROBIT	12
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
6.1. UBICACIÓN DEL ENSAYO	14
6.2. MATERIALES DE LABORATORIO.....	14
6.2.1. <i>Equipos</i>	14
6.2.2. <i>Materiales</i>	14
6.2.3. <i>Material biológico</i>	15
6.3. METODOLOGÍA.....	15
6.3.1. <i>Recolección y tratamiento de agua</i>	15
6.3.2. <i>Aclimatación de <i>Mulinia</i> sp. y postlarvas de <i>L. vannamei</i></i>	15
6.3.3. <i>CL₅₀</i>	16
6.4. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
6.4.1. <i>Variables de estudio</i>	17
6.4.2. <i>Análisis estadístico</i>	18
7. RESULTADOS	19

7.1. CL ₅₀ EN <i>MULINIA</i> SP.....	19
7.2. SUPERVIVENCIA DE POSTLARVAS DE <i>L. VANNAMEI</i>	23
8. DISCUSIÓN.....	25
9. CONCLUSIONES.....	27
10. RECOMENDACIONES.....	28
11. REFERENCIAS.....	29
12. ANEXOS	37

INDICE DE GRÁFICOS

Figura 1: Esquema de asignación de las concentraciones durante los experimentos de CL ₅₀ en <i>Mulinia</i> sp. y postlarvas de <i>L. vannamei</i> . A, B, C y D son las concentraciones 0, 0,5, 0,8 y 1 mg/l de SO ₄ Cu.5H ₂ O, respectivamente. 1, 2 y 3 número de réplica. .	18
Figura 2: Porcentaje de mortalidad acumulada (%) de <i>Mulinia</i> sp., a las 24, 48 y 72 horas de exposición al SO ₄ Cu.5H ₂ O.	20
Figura 3: Análisis de Probit para CL ₅₀ de SO ₄ Cu en <i>Mulinia</i> sp. a las 24 horas.....	21
Figura 4: Análisis de Probit para CL ₅₀ de SO ₄ Cu en <i>Mulinia</i> sp. a las 48 horas.....	22

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Valores promedio ± DE de temperatura, oxígeno y pH durante el experimento de CL ₅₀ de SO ₄ Cu.5H ₂ O en <i>Mulinia</i> sp.....	19
Tabla 2: Mortalidad acumulada [número total de animales muertos (% de mortalidad)] de <i>Mulinia</i> sp. a las 24, 48 y 72 horas. Concentraciones expresadas en mg/l de SO ₄ Cu.5H ₂ O, SO ₄ Cu y Cu.	20
Tabla 3: Determinación de la CL ₅₀ de SO ₄ Cu en <i>Mulinia</i> sp. a las 24 horas.	21
Tabla 4: Determinación de la CL ₅₀ de SO ₄ Cu en <i>Mulinia</i> sp. a las 48 horas.	22
Tabla 5: Valores promedio ± DE de temperatura, oxígeno y pH durante el experimento de SO ₄ Cu.5H ₂ O en <i>L. vannamei</i>	23
Tabla 6: Mortalidad acumulada [número de animales muertos (% de mortalidad)] de <i>L. vannamei</i> a las 24, 48 y 72 horas. Concentraciones expresadas en mg/l de SO ₄ Cu.5H ₂ O, SO ₄ Cu y Cu.	23

1. INTRODUCCIÓN

Dentro del cultivo extensivo y semi-intensivo de *Litopenaeus vannamei* existen organismos considerados como fauna nociva, los cuales incluyen a peces y, moluscos gasterópodos y bivalvos. Dentro de las últimos tenemos a especies de mejillones y almejas, los cuales son filtradores agresivos, además de competir por el oxígeno y disminuir la alcalinidad total (al consumir el carbonato de calcio del agua para la formación de sus conchas) del agua de los estanques.

Mulinia sp., es una almeja que se ha encontrado desde el 2013 en los estanques de la provincia de El Oro (Expreso, 2013). Esta especie es considerada como un organismo invasor, colonizando tierras europeas y sudamericanas (principalmente en la costa atlántica) (Craeymeersch et al., 2019), ya que es muy tolerante a las variaciones de los parámetros de calidad de agua y suelo.

En la acuicultura se utilizan diferentes productos químicos como floculantes, bactericidas, alguicidas, piscicidas, molusquicidas, etc., los mismos que al adicionarse podrían actuar no solamente en los estanques, sino también en el exterior si son evacuados en los efluentes.

Uno de estos productos es el sulfato de cobre (SO_4Cu), utilizado para la eliminación de algas y moluscos bivalvos. Sin embargo, este no produce toxicidad *per se*, sino el cobre (Cu) resultado de su disociación en el agua, el cual sin el conocimiento adecuado para su uso podría generar daños en los animales de cultivo y otras especies tanto dentro como fuera de los estanques. A esto se suma el hecho de que los metales pesados pueden ser absorbidos por los organismos, lo que se conoce como bioacumulación y biomagnificación. El SO_4Cu se lo comercializa como sulfato de cobre pentahidratado

($\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$), sin embargo, podemos encontrar fuentes alternativas de Cu como el cobre quelado.

La concentración letal media (CL_{50}) es un ensayo de toxicidad que ayuda a determinar la concentración de un elemento o compuesto químico que provoca el 50% de mortalidad de los organismos en intervalos de tiempo que van desde las 24 hasta las 96 horas. (Benítez y Lesmes, 2014). Estas pruebas son de suma importancia para el uso seguro de sustancias y así evitar desastres tanto en la parte productiva como en la ambiental.

El efecto letal del Cu ha sido reportado en varios organismos acuáticos, sin embargo, existe poca información de su toxicidad en las especies de bivalvos que infestan las granjas camaroneras. Así, es importante realizar estudios que determinen las concentraciones letales en estos organismos, lo que evitaría el uso inapropiado de compuestos que contengan este elemento, provocando daños tanto para los camarones como para el medio ambiente.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La almeja o conchilla, *Mulinia* sp., ha sido reportada como la promotora de varios problemas en la producción camaronera de la provincia de El Oro (Ecuador). Así, los productores han incurrido en el uso de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, aún sin conocer la concentración adecuada para su eliminación, lo que podría provocar daños ambientales a mediano y largo plazo. De igual manera, se desconoce si las concentraciones de este químico utilizadas en el campo tienen un efecto negativo sobre la supervivencia de las postlarvas de *L. vannamei*.

3. JUSTIFICACIÓN

La camaronicultura es una de las actividades de mayor crecimiento a nivel mundial y la que apunta a doblar o triplicar su producción debido a la fuerte demanda de alimentos a nivel mundial. Para esto es muy importante mantener los sistemas de cultivo debidamente adecuados y en condiciones óptimas.

Sin embargo, existen diferentes organismos que pueden entrar a los sistemas de producción. Uno de estos son las almejas del género *Mulinia*, las mismas que filtran el fitoplancton, compiten por el oxígeno, y disminuyen la alcalinidad y dureza del agua.

Para la eliminación de moluscos bivalvos se utiliza $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sin embargo, existe un desconocimiento de su concentración letal en *Mulinia* sp., y si esta también puede provocar afectaciones a los camarones cuando es adicionado a los estanques de cultivo.

CL_{50} es un estudio que se realiza para conocer la concentración a la cual alguna sustancia causa la muerte del 50% de los organismos en un tiempo determinado. Así, mediante este trabajo se pretende dar a los productores camaroneros la concentración de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ adecuada para la eliminación de estos moluscos, evitando de esta manera el mal uso de este químico lo que podría conllevar a daños ambientales posteriores.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Determinar la CL_{50} de $SO_4Cu.5H_2O$ en *Mulinia* sp. y su efecto en la tasa de supervivencia de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*.

4.2. Objetivo específico

- Determinar la CL_{50} de $SO_4Cu.5H_2O$ en *Mulinia* sp.
- Evaluar el efecto de la CL_{50} de $SO_4Cu.5H_2O$ en *Mulinia* sp. sobre la tasa de supervivencia de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*.

5. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. Cultivo de camarón en el Ecuador

L. vannamei es un crustáceo perteneciente a los decápodos nativo de la costa oriental del océano Pacífico, distribuyéndose desde el golfo de California y hasta el norte de Perú. Esta especie presenta fácil adaptación a las condiciones ambientales (Jia, Wang, Lu, Zhang y Dong, 2014). Es considerado como uno de los crustáceos más eurihalinos (Bermudes, Nieves y Medina, 2017; Alves, Brandao, Schmidt, y Wasielesky, 2019), ya que tolerando rangos de salinidad de 1 - 50 UPS (Lara-Espinoza, et al., 2015). Se alimenta de plancton durante sus estadios larvarios, cambiando a detritívoro bentónico en la etapa adulta (CESAIB, 2014).

La camaronicultura en el Ecuador es una de las actividades de mayor impacto económico, representando una gran fuente de entrada de divisas debido a su desarrollo y crecimiento. Sin embargo, el desarrollo de nuevas tecnologías, metodologías y otras formas de cultivo ha estado regulado por las leyes, por lo que puede considerarse como una limitante para el avance tecnológico. Armijos, Macuy, Mayorga, Rodríguez y Clavijo (2015), aseguran que los camaroneros pueden verse afectados por las regulaciones ya establecidas o sus modificaciones, especialmente los de la provincia de El Oro, que son aquellos que generan mayor impacto al ambiente (Rodríguez, Chiriboga y Lojan, 2016).

5.2. *Mulinia* sp.

Dentro del cultivo de camarón podemos encontrar organismos considerados como fauna nociva, dentro de las que se incluyen la millonaria (*Gambusia affinis*), el caracol tornillo (*Cerithidea valida*), el mejillón y la conchilla o almeja (*Mulinia* sp.) (Ibarra, Martínez, Cornejo y Proaño, 2017; Pinzón, 2017). Esta última ha sido observada desde el 2013 en

diferentes zonas de la provincia de El Oro, siendo muy difícil de eliminar de los estanques (Expreso, 2013).

Las almejas como la *Mulinia edulis* pueden habitar en fondos lodosos y arenosos, llegando a tolerar concentraciones muy bajas de oxígeno (Abarca, Toledo y Oliva, 2018). Otro representante es la *Mulinia lateralis*, especie reconocida taxonómicamente (identificación genética por confirmar) como la causante de la infestación de camaronerías en las costas orenses (Solano y Britzke, comunicación personal). *M. lateralis* también ha sido reportada en las costas de Holanda (Craeymeersch et al., 2019), siendo considerada como una especie invasora debido a su gran capacidad de adaptación y colonización. Exhibe altas tasas de crecimiento y reproducción, alcanzando en cortos periodos de tiempo densidades sobre los 21000 individuos/m² (Chalermwat, Jacobsen y Lutz, 1991). Prefiere sustratos de tipo fangoso arenoso y fangoso (Walker y Tenore, 1984), condiciones de suelo ampliamente encontradas en los fondos de los estanques camaronerías. Asimismo, en estadios larvarios puede tolerar rangos de salinidad entre 10 a 30 UPS a 22,5°C, reduciéndose este rango a medida que aumenta o disminuye drásticamente la temperatura (Calabrese, 1969), lo que podría explicar que en temporada fría de la costa ecuatoriana se la encuentre con mayor frecuencia en los estanques camaronerías.

Otras especies de moluscos también han sido reportadas como moluscos invasores en la producción camaronería del Ecuador (caracoles de la familia Ampullariidae; mejillones de las familias Mytilidae y Dreissenidae; y almejas de las familias Solecurtidae y Cyrenidae) (Lodeiros y Torres, 2018), evidenciando la diversidad de organismos que se encuentran invadiendo los estanques.

Todos estos organismos pueden ingresar a los estanques en su forma larvaria y permanecer en ellos después de la cosecha, más aún si existe un mal tratamiento post-cosecha de los estanques.

Existen métodos mecánicos y químicos que pueden ser utilizados para el control de moluscos bivalvos. Dentro de los métodos mecánicos podemos mencionar a la filtración (Lodeiros y Torres, 2018), el secado (Rojas, Haws y Cabanillas, 2005). Los sistemas de filtración utilizan mallas. Suelen ser una medida efectiva si son del diámetro correcto y se toman las medidas para que se mantengan en buen estado (Cuéllar, Lara, Morales, De Gracia y García, 2010).

El secado también es una medida práctica. Sin embargo, muchos productores no mantienen un tiempo de secado adecuado de las piscinas, dejando pequeñas charcas tanto en la mesa como en el préstamo dentro de las cuales pueden permanecer peces y moluscos pequeños, por lo que el drenado y secado debe ser total en todos los estanques (Rojas, Haws y Cabanillas, 2005).

5.3.SO₄Cu

En el cultivo de camarón, el SO₄Cu es empleado para el control de algas nocivas filamentosas (Cheng, Liu, Yang, Song y Li, 2014). También es utilizado para controlar problemas asociados a moluscos. Sin embargo, Avilés y García (2005) reportan su baja eficiencia para el control de *C. valida*. Aunque este producto se considera efectivo en muchos casos, puede generar un impacto negativo al medio debido a su toxicidad residual (Lodeiros y Torres 2018).

También han sido reportadas alternativas para reemplazar este químico. Dentro de estas tenemos al cobre quelado, el cual parece más efectivo y seguro (Bharadwaj, Patnaik, Browdy, y Lawrence, 2014; Zhou, Davis, y Rhodes, 2014).

5.4.Toxicidad del SO₄Cu

En el medio acuático, los organismos pueden llegar a captar sustancias peligrosas del medio acuático como por ejemplo los metales pesados, los mismos que pueden llegar a bioacumularse si los ingresos exceden su tasa de eliminación (Rojas et al., 2015).

En *L. vannamei* algunos elementos contaminantes generan lesiones a los órganos llegando incluso a ocasionarle la muerte. Dentro de los principales órganos afectados por la presencia de tóxicos en el agua están las branquias (importantes para los procesos de respiración y osmorregulación) y hepatopáncreas (ocasionando problemas en la función digestiva) (Zhao et al., 2018; Su et al., 2019).

El SO₄Cu es usado por los camaroneros para el control de floraciones de macro y micro algas y de moluscos (Boyd y Tucker, 1998; Boyd y Massaut, 1999; Bautista et al., 2015), siendo el principal producto que se utiliza para el tratamiento dichos problemas.

También puede afectar a los peces, bloqueando la osmorregulación en las branquias y causando daños mecánicos y fisiológicos (Boyd y Massaut, 1999). Esto ha sido demostrado en los estudios con alevines de *Oreochromis* sp. (Romero, 2014) y *Danio rerio* (Scotto, Arrilucea, Vargas, Salas, e Ybañez, 2016), en los que se obtuvieron concentraciones letales para el 50% de los organismos de 0,9843 y 0,1875 mg/l después de tiempos de exposición de 72 y 96 horas, respectivamente.

Sin embargo, el elemento nocivo en los organismos no es el SO₄Cu *per se* sino el Cu, resultado de su disociación en el agua (Boyd y Massaut, 1999). Debido a esto, en ciertos

países el uso de Cu es regulado e incluso prohibido debido a que las aplicaciones en el sector agrícola y acuícola han provocado que los efluentes sobrecarguen las desembocaduras con dicho elemento, llegando a valores de hasta 1,0 mg Cu/l, concentración que es considerada elevada y que puede llegar a biomagnificarse en los organismos que se encuentren en dicho medio. (Alves y Peixoto, 2015; Marengoni, Klosowski, Oliveira, Chambo y Junior, 2013).

5.4.1. Mecanismos de acción del Cu en moluscos bivalvos y crustáceos

En algunas especies de moluscos bivalvos, el Cu puede ingresar a las células de los sistemas digestivo, circulatorio y respiratorio unido a diversas partículas, lo que produce mutaciones o muerte celular, desencadenando en la necrosis de estos tejidos (Rodríguez-de la Rúa, Arellano, Gonzalez, Blasco y Sarrasquete, 2005).

Dentro de los crustáceos, el sistema lizosomal de los cangrejos es uno de los más afectados por la presencia de Cu. Esto se debe a que ingresa fácilmente a la célula debilitando la membrana. Sin embargo, su afectación depende de la capacidad de desintoxicación y talla del organismo y, de la concentración y tiempo de exposición (Aliko, Hajdaraj, Caci y Faggio, 2015).

En el caso de camarones, tales como *L. vannamei*, el Cu no presenta grandes afectaciones cuando se encuentra en cantidades traza (Yuan, Jin, Xiong y Zhou, 2018), ya que es un elemento requerido por los crustáceos para el buen funcionamiento de su sistema inmunitario y circulatorio (Tacon, 1989). Estudios en esta especie han demostrado que su presencia en el alimento no genera estrés ni mortalidad, aunque si ciertos cambios internos como, afectaciones al tamaño del hepatopáncreas o alteraciones en la microbiota del tracto digestivo (Zhou et al., 2017).

5.4.2. Factores que influyen la toxicidad del SO_4Cu

Existen factores ambientales, biológicos y fisiológicos que pueden influir en la toxicidad de una sustancia. Dentro de estos, la concentración/dosis y los compuestos formados (metilos, acetiluros, etc.) (Londoño, Londoño y Muñoz-García, 2016) y factores fisiológicos como el estado de salud, talla, especie y tolerancia al elemento (Vivas, 2008) pueden considerarse como factores determinantes para la toxicidad de un compuesto.

En el caso del SO_4Cu , la alcalinidad, dureza, pH, materia orgánica disuelta y particulada, influyen su toxicidad al alterar el efecto tóxico del Cu (Boyd y Tucker, 1998).

5.5. Concentración letal media (CL_{50})

También llamada concentración letal 50 o LC_{50} (por sus siglas en inglés, Lethal concentration 50), es un ensayo de toxicidad aguda que calcula a través de un modelo estadístico la concentración de una sustancia que puede matar al 50% de organismos en un tiempo definido (Gámez y Ramírez, 2008).

Es uno de los métodos más efectivos para determinar el grado de incidencia de un elemento o compuesto en base a varios factores como concentración y tiempo de exposición. Estos elementos pueden ser metales como cobre, mercurio, plomo entre otros (Rodríguez, Castellanos, Contreras, Franco, y Serrano, 2015).

Los métodos para realizar los ensayos de toxicidad aguda pueden ser estáticos y de flujo continuo, pudiendo ser los primeros con y sin renovación de agua (FAO, 1981; Abarca, 2014), sin embargo, hay que tener en cuenta que el método que se use va a tener gran influencia en los resultados obtenidos. Actualmente se utilizan los métodos basados en los objetivos de cada investigación (Villamarín, Chacón y Álvarez, 2013).

Diferentes especies de peces, crustáceos y moluscos pueden ser utilizadas en este tipo de pruebas. En el caso de los peces se recomienda usar métodos para el monitoreo de las lesiones internas a nivel celular y de tejidos causadas por el elemento o compuesto tóxico, lo que también se conoce como “Estudios de genotoxicidad” (Oliveira et al., 2014). Sin embargo, este tipo de estudios son difíciles de realizar en postlarvas de camarón o juveniles de almejas, debido a que es más complicado revisar las lesiones ocasionadas en sus órganos ya que son organismos más pequeños.

Dentro de los moluscos, las especies de bivalvos son las que mayormente han sido utilizadas debido a su capacidad de filtración y mayor facilidad de manejo durante los estudios toxicológicos (Villegas, Lodeiros, Malavé, Revilla, y Lemus, 2015). Se usan normalmente bivalvos en diferentes tamaños que van desde organismos pequeños, juveniles, hasta adultos, usando periodos de tiempo más cortos (48 a 72 horas) (Anderson & Phillips, 2016) en relación a peces (96 horas) como en los estudios realizados por Romero (2014) y Scotto et al., (2016).

El crustáceo, *L. vannamei*, ha sido recomendado para pruebas de toxicidad aguda, ya que presenta reacciones muy adversas al estrés ambiental y facilidad de manejo, convirtiéndose en la mejor opción para estudios ecotoxicológicos (Su et al., 2019). Soegianto, Irawan y Usman (2013) reportan un CL_{50-96h} (concentración letal media a las 96 horas) de Cu de 2,1 mg/l en juveniles de *L. vannamei*. Sin embargo, la concentración puede variar dependiendo de la salinidad, ya que esta puede jugar un papel importante en la toxicidad de ciertos compuestos o influir en el estado fisiológico de los animales (Chong et al., 2014; Burbano et al., 2015; Bermudes et al., 2017). Otros parámetros como el NH_4^+ también influyen importantemente en la supervivencia de las larvas (Bermudes

et al., 2017), aunque en el caso de la temperatura no ha sido demostrado su efecto (Arzola, Piña, Nieves y Medina, 2013).

5.6. Análisis Probit

El análisis Probit, es un método estadístico que es empleado en la mayoría de los casos para obtener mediante cálculo el valor correspondiente al CL₅₀ con respecto a organismos de estudio, en donde es necesario obtener los datos de concentraciones, mortalidad, teniendo en cuenta los tipos de variables dependiente e independiente.

Para obtener el valor referente al CL₅₀ hay que tener los datos conforme se deben ingresar al programa y hoja de cálculo. Para ello tenemos fórmulas tales como:

$$p = \left(\frac{r}{n}\right) \times 100 \quad (1)$$

En donde:

(*d*) concentración de la sustancia o dosis

(*p*) porcentaje del efecto producido

(*r*) número de organismos afectados (muertos)

(*n*) número de organismos totales usados en el ensayo

Mediante el gráfico de la regresión lineal, se obtienen los valores de *x* y *a* en una ecuación, y un valor de R² que sirve para interpretar los resultados. Finney (1952) hace uso de una tabla llamada de Probits, la cual expresa la mortalidad en valores que son aceptados por el análisis, obteniéndose de esta manera una fórmula con el mínimo de error. La ecuación se propone de la siguiente forma:

$$y = a + bx \quad (2)$$

En donde:

(*a*) intercepción en y

(*b*) pendiente de la línea

Para facilitar el cálculo, se pueden usar programas estadísticos que contengan análisis de regresión tales como Probit Analysis Program, SPSS, entre otros.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1.Ubicación del ensayo

Los experimentos fueron realizados en el laboratorio de Maricultura de la Universidad Técnica de Machala, ubicada en la Av. Panamericana 5 ½ Km Vía Machala – Pasaje (Ecuador), en las siguientes coordenadas geográficas:

Longitud: 79°54'47.2"W

Latitud: 3°17'25.7"S

6.2.Materiales de laboratorio

6.2.1. Equipos

- Oxímetro YSI550A
- pHímetro YSI100
- Refractómetro – salinómetro
- Medidor de alcalinidad Hanna HI755
- Calibrador digital
- Balanza digital
- Difusores de aire

6.2.2. Materiales

- $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Acuarios de 6 l
- Probeta de vidrio de 1000 ml

- Balón de vidrio de 1000 ml
- Pipetas de 5 ml
- Varilla de vidrio
- Mangueras

6.2.3. Material biológico

- 60 especímenes de *Mulinia* sp.
- 120 postlarvas de *L. vannamei*

6.3. Metodología

6.3.1. Recolección y tratamiento de agua

500 l de agua proveniente del estero Huaylá en Puerto Bolívar fueron trasladados al laboratorio de Maricultura de la Universidad Técnica de Machala, lugar donde fue filtrada a través de mallas de 5 y 1 μm , antes de ser colocada en un tanque reservorio con un filtro de acuario y piedras difusoras con la finalidad de eliminar N-NH_4 y saturarla de oxígeno. Además, parámetros como temperatura, oxígeno, pH, salinidad, alcalinidad total, y N-NH_4 total fueron medidos al agua depositada inicialmente.

6.3.2. Aclimatación de *Mulinia* sp. y postlarvas de *L. vannamei*

300 almejas obtenidas de una camaronera ubicada en el sitio “Sal Si Puedes” del cantón Santa Rosa de la provincia de El Oro fueron transportadas hasta el laboratorio, lugar en el cual fueron colocadas en un acuario con 30 l de agua de mar filtrada. El tiempo de aclimatación fue de 1 semana y durante este lapso los organismos fueron alimentados cada 2 días con microalgas de la especie *Tetraselmis* sp., manteniendo una concentración de 120.000 cél/ml. Los bivalvos no fueron alimentados antes al inicio del experimento.

Las postlarvas de camarón de la especie *L. vannamei* provenientes de un laboratorio ubicado en el sitio “El Coco” del cantón Machala fueron transportadas hasta el laboratorio de Maricultura de la Universidad Técnica de Machala y colocadas en un acuario con 30 l de agua de mar filtrada para su aclimatación. Se las alimentó 3 veces al día, en base al porcentaje de la biomasa con un alimento comercial.

Recambios de agua del 50% diario también fueron realizados con la finalidad de mantener la calidad de agua en cada unidad de aclimatación.

6.3.3. CL_{50}

6.3.3.1. *Mulinia* sp.

Para la determinación de la CL_{50} , se empleó el método estático sin renovación de agua (Ward y Parrish, 1983). Se utilizaron 12 acuarios con 5 l de agua de mar filtrada. Cuatro concentraciones de $SO_4Cu.5H_2O$ fueron probadas: 0 (control), 0,5, 0,8 y 1 mg/l, equivalentes a 0, 0,32, 0,51 y 0,64 mg/l de SO_4Cu , y 0, 0,13, 0,20 y 0,25 mg/l de Cu (tabla 2), con tres réplicas cada una. Las concentraciones se obtuvieron utilizando el método de diluciones a partir una solución patrón de 1000 mg/l de $SO_4Cu.5H_2O$ y utilizando la fórmula:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \quad (3)$$

Donde:

(C_1) concentración de la solución patrón

(V_1) volumen que se debe tomar de la solución patrón

(C_2) concentración final del acuario

(V_2) volumen final del acuario

Una vez alcanzadas las concentraciones de estudio, en cada acuario se colocaron 5 almejas con una longitud de concha promedio \pm DE (desviación estándar) de $8,81 \pm 1,02$ mm, respectivamente. Además, cada unidad experimental contó con aireación. Las almejas no fueron alimentadas durante todo el ensayo. La mortalidad fue registrada a las 24, 48 y 96 horas.

6.3.3.2. Postlarvas de *L. vannamei*

Las mismas concentraciones utilizadas en los ensayos con las almejas [0 (control); 0,5; 0,8 y 1 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$] fueron probadas con la finalidad de observar su efecto sobre la supervivencia de postlarvas de camarón. Se utilizaron 12 acuarios con 5 l de agua de mar filtrada y las 3 réplicas para cada concentración fueron obtenidas siguiendo el método de diluciones citado anteriormente. Además, cada unidad experimental contó con una piedra difusora para mantener los niveles de O_2 sobre 4 mg/l. En cada acuario se colocaron 10 postlarvas con una talla promedio \pm DE de $19,0 \pm 1,7$ mm, respectivamente. La mortalidad fue registrada a las 24, 48 y 72 horas.

Asimismo, la temperatura, oxígeno y pH fueron monitoreados en los mismos intervalos de tiempo en los ensayos con las almejas y postlarvas de *L. vannamei*.

6.4. Diseño experimental

El trabajo experimental tanto en almejas como para postlarvas de *L. vannamei* se realizó siguiendo el esquema de la figura 1.

6.4.1. Variables de estudio

- Porcentaje de mortalidad de *Mulinia* sp.
- Porcentaje de mortalidad de postlarvas de *L. vannamei*

6.4.2. Análisis estadístico

Para la determinación de CL_{50} se utilizó el análisis Probit citado por Finney (1952). Las concentraciones de $SO_4Cu \cdot 5H_2O$ fueron colocadas en su equivalente como SO_4Cu ya que el valor de 1 mg/l de $SO_4Cu \cdot 5H_2O$ no permitía realizar los cálculos, debido a que el $\text{Log}_{10}(1)$ es igual a 0, alterando de esta forma el gráfico lineal.

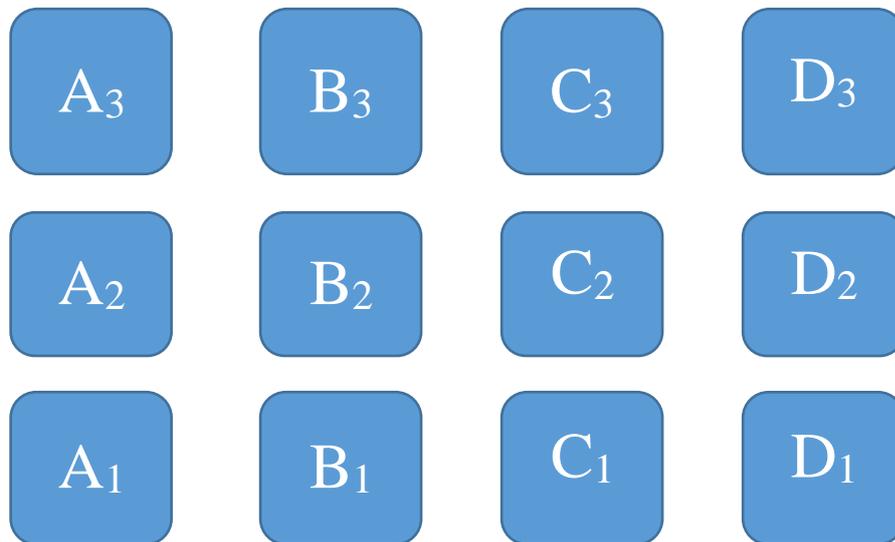


Figura 1: Esquema de asignación de las concentraciones durante los experimentos de CL_{50} en *Mulinia sp.* y postlarvas de *L. vannamei*. A, B, C y D son las concentraciones 0, 0,5, 0,8 y 1 mg/l de $SO_4Cu \cdot 5H_2O$, respectivamente. ₁, ₂ y ₃ número de réplica.

7. RESULTADOS

7.1. CL₅₀ en *Mulinia* sp.

Los valores de alcalinidad total y salinidad fueron 135 mg/l CO₃Ca y 35 UPS, respectivamente; siendo medidas antes de colocar el SO₄CU.5H₂O. La temperatura, oxígeno y pH se tomaron diariamente a las 0, 24, 48 y 72 horas del experimento, y los promedios ± DE son presentados en la tabla 1.

Tabla 1: Valores promedio ± DE de temperatura, oxígeno y pH durante el experimento de CL₅₀ de SO₄Cu.5H₂O en *Mulinia* sp.

Parámetro	Promedio ± DE
Temperatura (°C)	23,0 ± 0,8
Oxígeno (mg/l)	5,2 ± 0,4
pH	8,2 ± 0,1

En la tabla 2 se muestran las mortalidades acumuladas [número total de animales muertos (% de mortalidad)] en cada concentración de SO₄Cu.5H₂O, SO₄Cu o Cu y tiempo de exposición. A las 24 horas la mortalidad acumulada fue de 0, 9, 13 y 13 organismos, lo que representa el 0%, 60%, 87% y 87% de mortalidad en las concentraciones de 0, 0,5 0,8 y 1,0 mg/l de SO₄Cu.5H₂O, respectivamente. Mientras que a las 48 horas la mortalidad acumulada fue de 0, 10, 14 y 14 organismos, constituyendo el 0%, 67%, 93% y 93% de mortalidad en las concentraciones de 0, 0,5 0,8 y 1,0 mg/l de SO₄Cu.5H₂O, respectivamente. Asimismo, a las 72 horas se observó una mortalidad acumulada de 0, 12, 15 y 15 organismos, lo que representa el 0%, 80%, 100% y 100% de mortalidad en las concentraciones de 0, 0,5 0,8 y 1,0 mg/l de SO₄Cu.5H₂O, respectivamente. La figura (2) muestra la mortalidad acumulada (%) en las concentraciones de SO₄Cu.5H₂O después de cada tiempo de exposición.

Tabla 2: Mortalidad acumulada [número total de animales muertos (% de mortalidad)] de *Mulinia* sp. a las 24, 48 y 72 horas. Concentraciones expresadas en mg/l de SO₄Cu.5H₂O, SO₄Cu y Cu.

Concentración (mg/l)			Tiempo de exposición (horas)		
SO ₄ Cu.5H ₂ O	SO ₄ Cu	Cu	24	48	72
0,0	0,00	0,00	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
0,5	0,32	0,13	9 (60%)	10 (67%)	12 (80%)
0,8	0,51	0,20	13 (87%)	14 (93%)	15 (100%)
1,0	0,64	0,25	13 (87%)	14 (93%)	15 (100%)

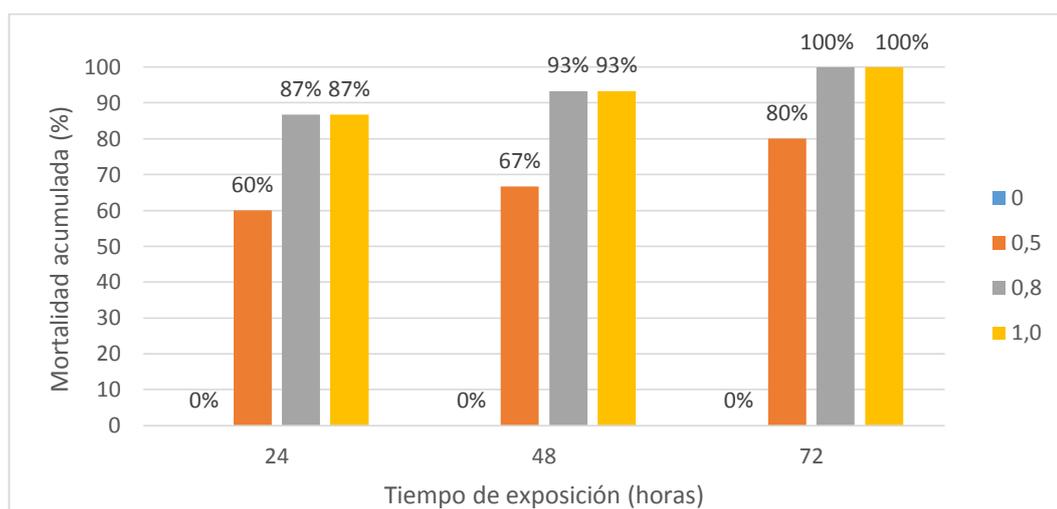


Figura 2: Porcentaje de mortalidad acumulada (%) de *Mulinia* sp., a las 24, 48 y 72 horas de exposición al SO₄Cu.5H₂O.

La CL₅₀ de SO₄Cu después de 24 horas de exposición a fue de 0,25, con un intervalo de confianza fiducial (95%) de 0,17 y 0,37 mg/l (tabla 3). Esto equivale en SO₄Cu.5H₂O a 0,39 mg/l con el intervalo de confianza fiducial de 0,27 y 0,58 mg/l y como Cu a 0,10 mg/l con el intervalo de confianza fiducial de 0,07 y 0,15 mg/l. Asimismo, la figura (3) muestra el coeficiente R², que indica que la concentración de SO₄Cu influye en el 90% del 50% de la mortalidad de *Mulinia* sp.

Tabla 3: Determinación de la CL₅₀ de SO₄Cu en *Mulinia* sp. a las 24 horas.

SO ₄ Cu (mg/l)	Log ₁₀ Conc.	Total de individuos	Nº de muertos	% de mortalidad	Probit (Y)
0	0	15	0	0	0
0,32	-0,495	15	9	60	5,25
0,51	-0,292	15	13	87	6,13
0,64	-0,194	15	13	87	6,13

$$y = ax + b$$

$$\text{Si } p = 50\%; y = 5$$

$$5 = 3,1351x + 6,8619$$

$$x = -0,59390795$$

$$CL_{50} = \text{Antilog} (-0,59390795)$$

$$CL_{50} = 0,25 \text{ mg/l de SO}_4\text{Cu}$$

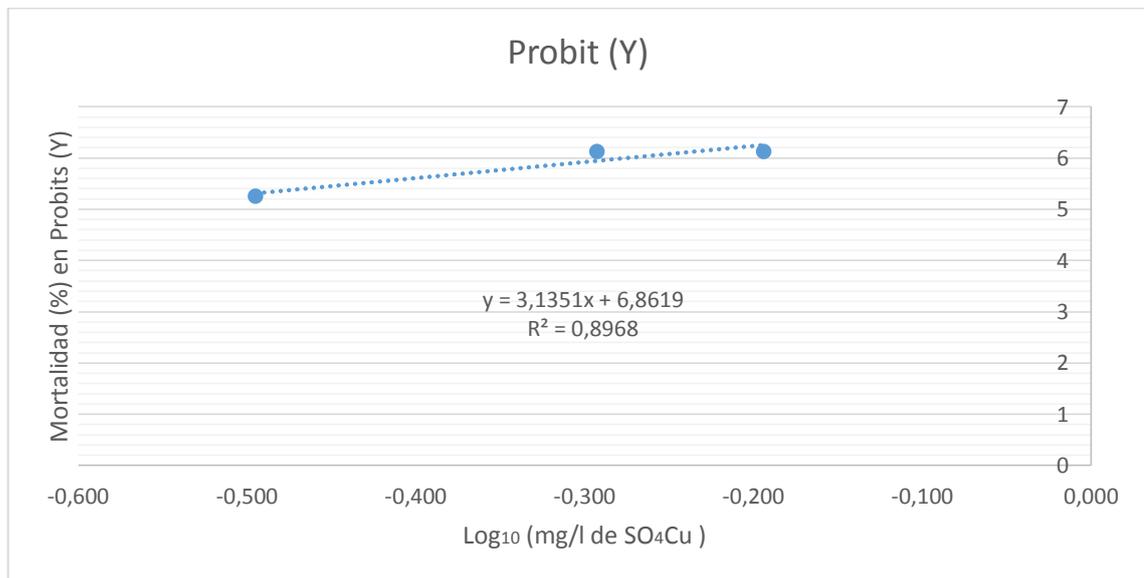


Figura 3: Análisis de Probit para CL₅₀ de SO₄Cu en *Mulinia* sp. a las 24 horas.

La CL₅₀ después de 48 horas de exposición a SO₄Cu fue de 0,24 mg/l, con un intervalo de confianza fiducial (95%) menor y mayor de 0,17 y 0,33 mg/l, respectivamente (tabla 4). Esta concentración letal media equivale como SO₄Cu.5H₂O a 0,37 mg/l con el intervalo de confianza fiducial de 0,26 y 0,52 mg/l o en Cu a 0,09 mg/l con el intervalo

de confianza fiducial de 0,07 y 0,13 mg/l. Asimismo, la figura (4) muestra el coeficiente R^2 , que indica que la concentración de SO_4Cu influye en el 90% del 50% de la mortalidad de *Mulinia* sp.

Tabla 4: Determinación de la CL_{50} de SO_4Cu en *Mulinia* sp. a las 48 horas.

SO_4Cu (mg/l)	Log_{10} Conc.	Total de individuos	Nº de muertos	% de mortalidad	Probit (Y)
0	0	15	0	0	0
0,32	-0,495	15	10	67	5,44
0,51	-0,292	15	14	93	6,48
0,64	-0,194	15	14	93	6,48

$$y = ax + b \quad \text{Si } p = 50\%; y = 5$$

$$5 = 3,705064x + 7,345012$$

$$x = -0,63292089$$

$$\text{CL}_{50} = \text{Antilog}(-0,63292089)$$

$$\text{CL}_{50} = 0,24 \text{ mg/l de } \text{SO}_4\text{Cu}$$

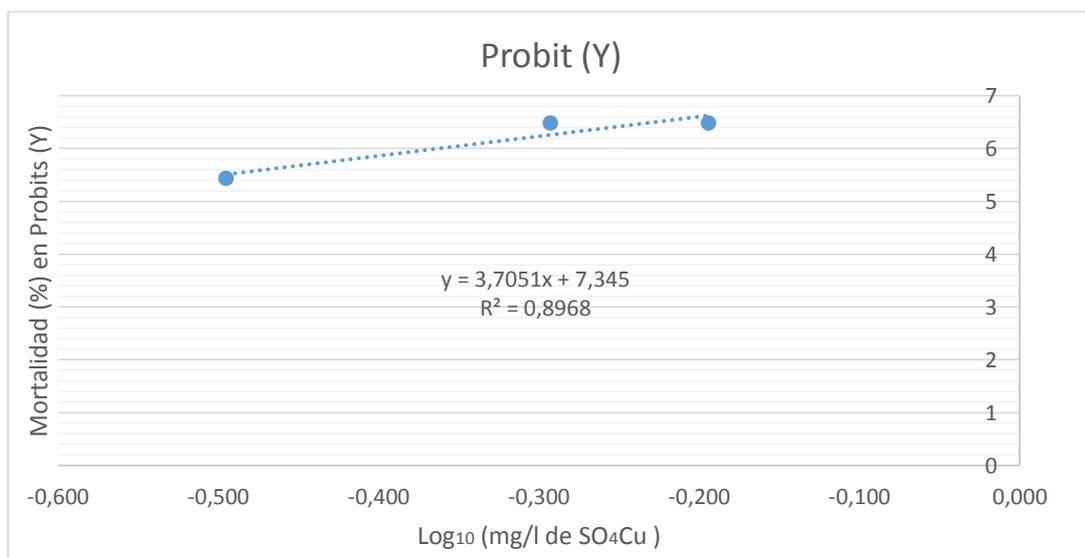


Figura 4: Análisis de Probit para CL_{50} de SO_4Cu en *Mulinia* sp. a las 48 horas.

A las 72 horas, no se realizó el análisis de Probit para CL₅₀ debido a que mortalidad acumulada alcanzó el 100% en las concentraciones de SO₄Cu.5H₂O de 0,8 y 1,0 mg/l.

7.2. Supervivencia de postlarvas de *L. vannamei*

La alcalinidad total (135 mg/l como CO₃Ca) y la salinidad (35 UPS) fueron al inicio del experimento. La temperatura, oxígeno y pH se tomaron diariamente a las 0, 24, 48 y 72 horas del experimento, y los promedios ± DE son presentados en la tabla 5.

Tabla 5: Valores promedio ± DE de temperatura, oxígeno y pH durante el experimento de SO₄Cu.5H₂O en *L. vannamei*.

Parámetro	Promedio ± DE
Temperatura (°C)	23,4 ± 0,4
Oxígeno (mg/l)	6,4 ± 0,2
pH	8,1 ± 0,1

Tabla 6: Mortalidad acumulada [número de animales muertos (% de mortalidad)] de *L. vannamei* a las 24, 48 y 72 horas. Concentraciones expresadas en mg/l de SO₄Cu.5H₂O, SO₄Cu y Cu.

Concentración (mg/l)			Tiempo de exposición (horas)		
SO ₄ Cu.5H ₂ O	SO ₄ Cu	Cu	24	48	72
0,0	0,00	0,00	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
0,5	0,32	0,13	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
0,8	0,51	0,20	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
1,0	0,64	0,25	0 (0%)	1 (3%)	1 (3%)

La tabla 6 muestra la mortalidad acumulada de las postlarvas de *L. vannamei* después de 24, 48 y 72 horas de exposición al SO₄Cu.5H₂O. A las 24 horas no se registró mortalidad en ninguna de las concentraciones. Sin embargo, a las 48 horas se observó una mortalidad acumulada de 0, 0, 0 y 1 organismos, lo que representa el 0%, 0%, 0% y 3% de mortalidad

en las concentraciones de 0, 0,5, 0,8 y 1,0 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, respectivamente. Luego de 72 horas, se pudo constatar que la mortalidad acumulada no registró incremento en ninguna de las concentraciones, manteniendo las mortalidades en 0%, 0%, 0% y 3% de mortalidad en las concentraciones de 0, 0,5, 0,8 y 1,0 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

8. DISCUSIÓN

El SO_4Cu , en forma de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, es un compuesto usado en acuicultura como alguicida y molusquicida. Sin embargo, la falta de conocimiento en su uso, dosificaciones y mecanismo de acción ha causado en muchas ocasiones desastres medioambientales.

Los moluscos bivalvos pueden acumular metales pesados como Cu, Cr, Cd, Pb entre otros, sin embargo, concentraciones elevadas de estos elementos pueden producir mortalidad. Estos organismos también presentan la capacidad para eliminar elementos, lo que se conoce como depuración. Sin embargo, cuando la tasa de depuración es superada por la tasa de incorporación se producen problemas en los tejidos y ciertos órganos, lo que conlleva incluso a su muerte (Rodríguez-de la Rúa et al., 2005). Rojas et al. (2015) atribuyen las variaciones en los tiempos de acumulación y depuración a la especie y tamaño de los organismos. Así, los representantes de los órdenes ostreidos y mitílidos pueden llegar a soportar concentraciones mayores en relación a los de los venéridos, orden en el cual están incluidas las almejas principalmente.

Valores de CL_{50} de SO_4Cu de 0,75, 1,25 y 2,99 mg/l han sido obtenidos en *Tivela mactroides* (Acosta y Lodeiros, 2004). Sin embargo, en el experimento con *Mulinia* sp., las concentraciones letales medias fueron de 0,25 y 0,24 mg/l de SO_4Cu a las 24 y 48 horas, indicando que la *Mulinia* sp. presenta mayor sensibilidad al SO_4Cu que *T. mactroides*.

Un bioensayo de 96 horas realizado por Reyes (2019) en juveniles de *Agropecten purpuratus* (20 – 25 mm) determinó una CL_{50} del $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ de 0,39 mg/l, lo que equivale a 0,25 mg/l de SO_4Cu . Esta concentración es muy similar a 0,25 y 0,24 mg/l de SO_4Cu , obtenidos a las 24 y 48 horas, aunque los tiempos de exposición no fueron iguales.

Existe una relación directa entre la mortalidad, y la concentración y tiempo de exposición a metales pesados, aumentando la mortalidad mientras mayor es la concentración y el tiempo de exposición (Sobrino, 2001). Esta relación no se observa con exactitud en este trabajo, debido a que las concentraciones de 0,51 y 0,64 mg/l de SO_4Cu mostraron mortalidades similares tanto a las 24 como a las 48 horas.

Por otro lado, durante un ensayo de 15 días con juveniles de *L. vannamei*, Soegianto et al. (2013), obtuvieron una mortalidad del 10% al exponerlos a concentraciones de Cu de 1,325 y 2,01 mg/l. En otro estudio, Nookala, Yallapragada y Velaga (2014), obtuvieron valores de CL_{50} de 55,93, 19,45, 2,29 y 0,8669 mg/l de Cu a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente, en postlarvas de esta especie. En ambos estudios los valores de CL_{50} de Cu fueron más altos en relación a las utilizadas en el experimento con postlarvas de *L. vannamei* (0, 0,13, 0,20 y 0,25 mg/l de Cu), lo que explica la falta de mortalidad con excepción de 0,25 mg/l de Cu a las 48 horas de exposición. Mendoza (2009) obtuvo una mortalidad del 17% en camarón de agua dulce, *Cryphiops caementarius*, expuestos a una concentración de 0,25 mg/l de Cu, sin embargo, como el autor mismo expresa, la salinidad, alcalinidad, dureza y materia orgánica pueden reducir la toxicidad del Cu debido a la formación de nuevos compuestos menos tóxicos.

9. CONCLUSIONES

Las concentraciones de 0,5, 0,8 y 1,0 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,32, 0,51 y 0,64 mg/l de SO_4Cu o 0,13, 0,20, 0,25 mg/l de Cu) probadas en este estudio de toxicidad de tipo estático sin renovación tuvieron un efecto sobre la tasa de mortalidad de almejas de la especie *Mulinia* sp. con una longitud de concha promedio de $8,81 \pm 1,02$ mm en todos los tiempos de exposición.

Los valores de CL_{50} de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a las 24 y 48 horas son 0,39 y 0,37 mg/l, lo que equivale a 0,25 y 0,24 mg/l de SO_4Cu y 0,10 y 0,09 mg/l de Cu, respectivamente.

Las concentraciones de 0,8 y 1,0 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ causan el 100% de mortalidad de estos moluscos a las 72 horas.

El $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en concentraciones entre 0,5 y 1,0 mg/l no produce mortalidad en las postlarvas de *L. vannamei* ($19,0 \pm 1,7$ mm) a las 24 horas. Sin embargo, 1,0 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ produce una mortalidad del 3% a las 48 horas.

Considerando lo mencionado anteriormente, aunque las concentraciones de 0,8 mg/l y 1,0 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ causan la muerte de todas las almejas de la especie *Mulinia* sp. a las 72 horas, la última concentración también muestra un efecto letal en las postlarvas de camarón a las 48 horas. Así, 0,8 mg/l de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ puede considerarse como la concentración adecuada a utilizarse durante 72 horas si se desea eliminar totalmente a estos bivalvos sin afectar la supervivencia de postlarvas de *L. vannamei*.

10. RECOMENDACIONES

- La alcalinidad total y salinidad del agua al inicio de ambos experimentos fueron 135 mg/l CO_3Ca y 35 UPS, respectivamente. Así, tomando en cuenta que estos parámetros podrían afectar la toxicidad del $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, se plantea la necesidad de realizar estudios posteriores con la finalidad de cuantificar su influencia sobre el efecto de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en la eliminación de *Mulinia* sp.

11. REFERENCIAS

- Abarca, A., Toledo, P., y Oliva, D. (2018). Composición química de ejemplares de la almeja taquilla *Mulinia edulis* de bancos naturales del norte y sur de Chile. *Biología Marina y Oceanografía*, 53(2), 265-272. DOI: 10.22370/rbmo.2018.53.2.1299
- Abarca, E. (2014). *Determinación de la toxicidad aguda CL₅₀, con plomo en juveniles de camarón Litopenaeus vannamei y alevines de tilapia roja Oreochromis sp.* (tesis de pregrado). Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador.
- Acosta, V., y Lodeiros, C. (2004). Efecto del cobre en juveniles de bivalvos (*Tivela mactroides*) provenientes de ambientes con diferentes niveles de contaminación. *Centro de Investigaciones Biológicas*, 38(1), 41-52. Recuperado de: http://revencyt.ula.ve/storage/repo/ArchivoDocumento/bolcib/v38n1/art_04.pdf
- Aliko, V., Hajdaraj, G., Caci, A., y Faggio, C. (2015). Copper induced lysosomal membrane destabilisation in haemolymph cells of Mediterranean Green Crab (*Carcinus aestuarii*, Nardo, 1847) from the Narta Lagoon (Albania). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(5), 750-756. DOI: 10.1590/S1516-89132015050244
- Alves, J., y Peixoto, M. (2015). Biomass reduction of *Salvinia molesta* exposed to copper sulfate pentahydrate (CuSO₄.5H₂O). *Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 10(3), 520-529. DOI: 10.4136/ambi-agua.1633
- Alves, I., Brandao, H., Schmidt, F., y Wasielesky, W. (2019). Acute toxicity of nitrate in *Litopenaeus vannamei* juveniles at low salinity levels. *Ciencia Rural*, 49(1), 1-9. DOI: 10.1590/0103-8478cr20180439
- Anderson, B., y Phillips, B. (2016). Saltwater Toxicity Tests. *Marine Ecotoxicology*, 6, 167-197. DOI: 10.1016/b978-0-12-803371-5.00006-0
- Armijos, M., Macuy, J., Mayorga, E., Rodríguez, L., y Clavijo Basantes, M. (2015). Análisis del impacto económico de la aplicación del decreto N°1391 en la regularización de la industria acuícola camaronera del Ecuador. *Ciencia UNEMI*, 8(16), 11-20. DOI: 10.29076/issn.2528-7737vol8iss16.2015pp11-20p
- Arzola, J., Piña, P., Nieves, M., y Medina, M. (2013). Survival of White Shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae at different salinities and temperatures. *MVZ*

Córdoba, 18, 3618-3625. Recuperado de
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69329148004>

- Avilés, H., y García, D. (2005). *Tratamiento y prevención de infestaciones causadas por caracoles (Cerithidea valida) en piscinas camaroneras* (tesis de pregrado). Escuela Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
- Bautista, J., Frías, M., Velarde, G., Voltolina, D., García-de la Parra, L., y Soto, M. (2015). Relationships between copper and stress indicators in the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 48(3), 193-203. DOI: 10.1080/10236244.2015.1024079
- Benítez, M., y Lesmes, J. (2014). *Determinación de la concentración letal 50 (CL50) de tres insecticidas de uso doméstico con el mismo principio activo* (tesis de pregrado). Universidad Santo Tomás, Bogotá, Colombia.
- Bermudes, J., Nieves, M., y Medina, A. (2017). Effect of temperature and salinity on larval survival and development of *Litopenaeus vannamei*. *MVZ Córdoba*, 22(2), 5844-5853. DOI: 10.21897/rmvz.1022
- Bharadwaj, A., Patnaik, S., Browdy, C., y Lawrence, A. (2014). Comparative evaluation of an inorganic and commercial chelated copper source in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed diets containing phytic acid. *Aquaculture*, 422(423), 63-68. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.11.025
- Boyd, C., y Massaut, L. (1999). Risk associated with use of chemicals in pond aquaculture. *Aquacultural Engineering*, 20, 113- 132. DOI: 10.1016 / S0144-8609 (99) 00010-2
- Boyd, C., y Tucker, C. (1998). *Pond aquaculture water quality management*. Estados Unidos de América: Kluwer Academic Publishers.
- Burbano, E., Imués, M., González, E., Otavio, L., Olivera, A., y Vinatea, L. (2015). Supervivencia de postlarvas de *Litopenaeus vannamei* sometidas a pruebas de estrés osmótico y su relación con el estado de muda. *Biología Marina y Oceanografía*, 50(2), 323-329. DOI: 10.4067/S0718-19572015000300010
- Calabrese, A. (1969). Individual and combined effects of salinity and temperature on embryos and larvae of the Coot Clam, *Mulinia lateralis* (Say). *Marine Biological Laboratory*, 137(3), 417-428. Recuperado de

<http://www.jstor.org/stable/1540164>

- Chalermwat, K., Jacobsen, T., y Lutz, R. (1991). Assimilation of bacteria by the Dwarf Surf Clam *Mulinia lateralis* (*Bivalvia: Macridae*). *Marine Ecology Progress Series*, 71, 27-35.
- Cheng, B., Liu, Y., Yang, H., Song, Y., y Li, X. (2014). Effect of copper on the growth of shrimps *Litopenaeus vannamei*: water parameters and copper budget in a recirculating system. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 32(5), 1092-1104. DOI: 10.1007/s00343-014-3277-1
- Chong, J., Charmantier, G., Boulo, V., Lizárraga, J., Enríquez, L., y Giffard, I. (2014). Osmoregulation pattern and salinity tolerance of the White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) during postembryonic development. *Aquaculture*, 422(423), 261-267. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.11.03
- CESAIB. (2014). Ficha técnica sanitaria de especies de cultivo en el estado de Baja California. Recuperado de http://www.cesaibc.org/sitio/archivos/FICHA%20TEC.%20SANITARIA%20DE%20L.%20VANNAMEI_070616204151.pdf
- Craeymeersch, J., Faasse, M., Gheerardyn, H., Troost, K., Nijland, R., Engelberts, A., Perdon, K., van den Ende, D., y van Zwo, J. (2019). First records of the Dwarf Surf Clam *Mulinia lateralis* (Say, 1822) in Europe. *Marine Biodiversity Records*, 12(5), 1-11. DOI: 10.1186/s41200-019-0164-7
- Cuéllar, J., Lara, C., Morales, V., De Gracia, A., y García, O. (2010). *Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo del Camarón Blanco Penaeus vannamei*. OIRSA OSPESCA, C.A. pp. 132. Recuperado de <http://aquaticcommons.org/16644/1/86.%20Various%20Institutions.%20MBP%202010%5B1%5D.pdf>
- Expreso. (2013). Almejas matan al camarón. *Expreso*. Recuperado de https://www.expreso.ec/historico/almejas-matan-al-camaron-JBGR_5360629
- FAO. (1981). Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4a. Bases para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. *Documento técnico de pesca*, 164, 1-34.
- Finney, D. (1952). Probit Analysis (2nd. Ed.). *Journal of the Institute of Actuaries*, 78(3),

- Gámez, C., y Ramírez, E. (2008). *Determinación de la concentración letal media (CL50-48) del herbicida Glifosato Roundup 747 sobre ecosistemas acuáticos mediante pruebas toxicológicas con Daphnia magna* (tesis de pregrado). Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia.
- Ibarra, T., Martínez, C., Cornejo, M., y Proaño, J. (2017). Distribución y abundancia de meiobentos en tres estanques de cultivo de *Penaeus vannamei* en camaronera. *La Técnica*, 18, 58-69. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6087651>
- Jia, X., Wang, F., Zhang, D., y Dong, S. (2014). Immune responses of *Litopenaeus vannamei* to thermal stress: a comparative study on shrimp in freshwater and seawater conditions. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 47(2), 79-92. DOI: 10.1080/10236244.2014.894349
- Lara, C., Espinosa, A., Rivera, M., Astorga, K., Acedo Félix, E., y Bermúdez, M. (2015). Desarrollo del camarón *Litopenaeus vannamei* en un sistema de cultivo intensivo con biofloc y nulo recambio de agua. *AquaTIC*, 43, 1-13. Recuperado de <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/263/250>
- Lodeiros, C., y Torres, G. (2018). Moluscos invasores en piscinas de cultivo de camarón. *Aquacultura*, 123, 25-31
- Londoño, L., Londoño, P., y Muñoz, F. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145-153. DOI: 10.18684/BSAA(14)145-153
- Marengoni, N., Klosowski, E., Oliveira, K., Chambo, S., y Junior, A. C. (2013). Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu binacional. *Quim. Nova*. 36(3), 359-363. DOI: 10.1590/S0100-40422013000300002
- Mendoza, R. (2009). Toxicidad aguda del sulfato de cobre en postlarvas de camarón *Cryphiops caementarius*. *Arch. Zootec.* 58(221), 103-110. Recuperado de: <http://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v58n221/art11.pdf>
- Nookala, T., Yallapragada, P., y Velaga, M. (2014). Tolerance of *Penaeus vannamei* postlarvae on exposure to copper. *International Journal of Toxicology and*

Applied Pharmacology, 4(1), 33-38. Recuperado de <https://www.semanticscholar.org/paper/ISSN-2249-9709-Original-Article-Tolerance-of-post-Nookala-Yallapragada/14c68eb4ca426c0849d43499a544ac8d3127df90>

- Oliveira, B., Loureiro, L., Bianchini, A., Chippari, A. Silva, B., Brandão, G., y Gomes, L. (2014). Acute copper toxicity in juvenile Fat Snook *Centropomus parallelus* (Teleostei: Centropomidae) in sea water. *Neotropical Ichthyology*, 12(4), 845-852. DOI: 10.1590/1982-0224-20140040
- Pinzón, C. (2017). *Métodos profilácticos y terapéuticos para el control de flora y fauna presente en una piscina camaronera* (tesis de pregrado). Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador.
- Reyes, S. (2019). *Toxicidad de los sedimentos marinos de las bahías Tortugas-Casma y Paracas sobre juveniles de *Agropecten purpuratus* (Lamarck, 1819) “Concha de Abanico”* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Rodríguez, G., Chiriboga, F., y Lojan, A. (2016). Las camaroneras ecuatorianas: Una polémica medioambiental. *Universidad y Sociedad*, 8(2), 151-156. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rus/v8n3/rus20316.pdf>
- Rodríguez-de la Rúa, A., Arellano, J. M., González-de Canales, L., Blasco, J., y Sarrasquete, C. (2005). Acumulación de cobre y alteraciones histopatológicas en el ostión *Crassostrea angulata*, Accumulation of copper and histopathological alterations in the Oyster *Crassostrea angulata*. *Ciencias Marinas*, 31(3), 455-466. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802005000400001&lng=es&tlng=es
- Rodríguez, S., Castellanos, C., Contreras, G., Franco, A., y Serrano, M. (2015). Efectos letales y subletales en juveniles de *Agropecten nucleus* expuestos a lodos de perforación. *Bol. Invest. Mar. Cost.* 44(2), 303-326. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-97612015000200005&lng=en&tlng=
- Rojas, A., Haws, M., y Cabanillas, J., (2005). *Buenas prácticas de manejo para el cultivo de camarón*. The David and Lucile Packard Foundation – CESASIN. pp. 56.

Recuperado

de

https://www.crc.uri.edu/download/PKD_good_mgt_field_manual.pdf

- Rojas, J., Rincón, J., Marín, J., Ortega, P., Buonocore, R., Colina, M., y Montilla, J. (2015). Toxicidad y bioacumulación de cromo (Cr^{+6}) en la almeja *Polymesoda solida* del sistema estuarino Lago de Maracaibo. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 49(1), 5-25. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/285579532_Toxicidad_y_bioacumulacion_de_Cromo_Cr6_en_la_almeja_Polymesoda_solida_del_sistema_estuarino_Lago_de_Maracaibo
- Romero, B. (2014). *Determinación de la Concentración letal media (CL50) producida por sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en alevines de Tilapia Roja (*Oreochromis sp.*)* (tesis de pregrado). Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador.
- Scotto, C., Arrilucea, M., Vargas, G., Salas, J., e Ybañez Caferino, J. (2016). Implementación de una metodología toxicológica para la rápida determinación del CL50 del sulfato de cobre en peces Cebra (*Danio rerio*) a 24, 48, 72, 96 y 120 horas de exposición. *Cátedra Villarreal*, 1(2), 185-190. DOI: 10.24039/cv20164272
- Sobrino, A. (2001). *Efecto de los metales Cd, Cr, Pb y sus mezclas en la almeja Catarina *Agropecten ventricosus* (Sowerby, 1842), (*Bivalvia, Pectinidae*)* (tesis doctoral). Instituto Politecnico Nacional, Centro de Investigaciones Marinas, La Paz, México.
- Soegianto, A., Irawan, B., y Usman, N. (2013). Effects of sublethal copper concentrations on gills of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 91, 630-634. DOI: 10.1007/s00128-013-1113-5
- Su, Y., Li, H., Xie, J., Xu, C., Dong, Y., Han, F., Qin, J., Chen, L., y Li, E. (2019). Toxicity of 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT) in the marine decapod *Litopenaeus vannamei*. *Environmental Pollution*, 251, 708-716. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.05.030
- Tacon, A. (1989). *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados manual de capacitación*. Italia: FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/3/AB492S/AB492S00.htm#TOC>

- Villamarín, S., Chacón, M., y Álvarez, R. (2013). Pruebas de toxicidad aguda CL (I) 50 en peces estuarinos (*Gambusia affinis*) utilizando efluentes industriales a la Bahía de Cartagena, Colombia. *Biosalud*, 12(2), 24-39. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n2/v12n2a03.pdf>
- Villegas, L., Lodeiros, C., Malavé, K., Revilla, J., y Lemus, M. (2015). Efecto subletal del cadmio en la Ostra Perla del Caribe *Pinctada imbricata* (Pteroida:Pteriidae). *Saber*, 1798(27), 39-45. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739474006>
- Vivas, A. (2008). *Toxicología veterinaria*. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria. Recuperado de <http://repositorio.una.edu.ni/2448/1/nl74V856.pdf>
- Walker, R., y Tenore, k. (1984). Growth and production of the Dwarf Surf Clam *Mulinia lateralis* (Say 1822) in a Georgia Estuary. *Gulf Research Reports*, 7(4), 357-363. DOI: 10.18785/grr.0704.07
- Ward, G., y Parrish, P. (1983) Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 6. Ensayos de toxicidad. Roma: FAO
- Yuan, Y., Jin, M., Xiong, J., y Zhou, Q. (2018). Effects of dietary dosage forms of copper supplementation on growth, antioxidant capacity, innate immunity enzyme activities and gene expressions for juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 84, 1059-1067. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.10.075
- Zhao, W., Wang, M., Wang, L., Liu, M., Jiang, K., Xia, S., Qi, C., y Wang, B., (2018). Analysis of the expression of metabolism-related genes and histopathology of the hepatopancreas of White Shrimp *Litopenaeus vannamei* fed with aflatoxin B1. *Aquaculture*, 485, 191-196. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.11.044
- Zhou, Y., Davis, A., y Rhodes, M. (2014). Comparative evaluation of copper sulfate and tribasic copper chloride on growth performance and tissue response in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* fed practical diets. *Aquaculture*, 434, 411-417. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.09.004
- Zhou, Y., Zhang, D., Peatman, E., Rhodes, M., Liu, J., y Davis, A. (2017). Effects of various levels of dietary copper supplementation with copper sulphate and copper hydroxychloride on Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* performance and microbial communities. *Aquaculture*, 476, 94-105. DOI:

10.1016/j.aquaculture.2017.04.016

12. ANEXOS



Anexo 1: *Mulinia* sp.



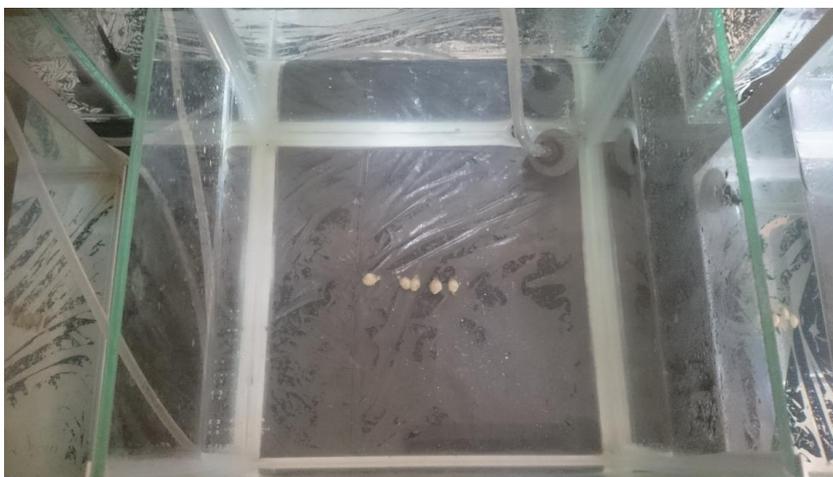
Anexo 2: Aclimatación y mantenimiento de *Mulinia* sp.



Anexo 3: Trabajo experimental con *Mulinia* sp.



Anexo 4: Trabajo experimental con *Mulinia* sp.



Anexo 5: Trabajo experimental con *Mulinia* sp.



Anexo 6: Recepción de las postlarvas de *L. vannamei*.



Anexo 7: Aclimatación de postlarvas de *L. vannamei*.



Anexo 8: Trabajo experimental con las postlarvas de *L. vannamei*.



Anexo 9: Pesaje de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$.



Anexo 10: Elaboración de la solución patrón de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$.



Anexo 11: Preparación de concentraciones de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ para los acuarios.



Anexo 12: Adición de solución patrón de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$.



Anexo 13: Toma de parámetros (O_2 y temperatura).



Anexo 14: Toma de parámetros (pH).



Anexo 15: Medición de postlarvas de *L. vannamei*.